

Revisiones Bibliográficas:

DURABILIDAD DE LA LÍNEA DE UNIÓN DE RESTAURACIONES ADHESIVAS

Recibido para arbitraje: 02/09/2007

Aceptado para publicación: 14/04/2008

- **Fábio Barbosa de Souza.** Doctorando en Dentística por la Facultad de Odontología de Pernambuco - Universidad de Pernambuco (FOP-UPE); Miembro Aspirante de la Sociedad Brasileña de Pesquisa Odontológica
- **Rodivan Braz da Silva.** Profesor Adjunto Doctor de Dentística de la FOP-UPE Miembro Efectivo de la Sociedad Brasileña de Pesquisa Odontológica

Autor para Correspondencia:

Fábio Barbosa de Souza. Rua Siqueira Campos, 587, Centro, Paulista-PE, Brasil, CEP: 53401-320. E-mail: fbsonline@ig.com.br Teléfonos: + 55 (81) 34330378, +55 (81) 99748237

RESUMEN

La durabilidad de las restauraciones adhesivas representa un punto crítico en el campo de la restauración dentaria, ya que la biodegradación es un factor decisivo para el fracaso de dichas restauraciones, a lo largo del tiempo. Este artículo busca esclarecer los mecanismos envueltos en el deterioro de la línea de unión, así como apuntar nuevos caminos o desafíos para la obtención de restauraciones adhesivas cada vez más durables.

PALABRAS CLAVES: Dentina, colágeno, restauración dentaria

ABSTRACT

The durability of adhesive procedures represents a critical point in function of the biodegradation to represent a decisive factor for the failure of the restorations. This aim of this study was to carry through a revision of literature with the purpose to clarify the involved mechanisms in the degradation of the bonding interface, as well as pointing new ways or challenges with respect to the attainment of more durable adhesive restorations.

KEYWORDS: Dentin, collagen, dental restoration

INTRODUCCIÓN

El mecanismo de unión a la dentina de gran parte de los sistemas adhesivos existentes en el mercado odontológico actual se basa en la hibridización. En este proceso, las superficies dentinarias son tratadas con agentes condicionantes ácidos, los cuales promueven la desmineralización de la dentina subyacente y consecuente exposición de una red de fibras colágenas. La introducción de sustancias resinosas en este sustrato posibilita la adhesión, resultando en una zona de dentina infiltrada por monómeros: la capa híbrida (1).

Aunque el empleo de la tecnología adhesiva represente un avance para la Odontología, evidencias científicas vienen demostrando que la durabilidad de esta unión es cuestionable (2, 3, 4), una vez que la humedad de la cavidad bucal y de la propia estructura dentinaria podría provocar el fracaso clínico de las restauraciones. Los fallos de los procedimientos restauradores pueden estar relacionadas a una incompleta infiltración de los agentes adhesivos en el sustrato dentinario (2), llevando a la exposición de fibras colágenas en la interfaz diente/restauración (5). Así, "*in vivo*", estas fibras estarían susceptibles a la disolución, favoreciendo la ocurrencia de fallos adhesivos prematuros (6, 7, 8), debido a la hidrólisis de las fibras colágenas (9, 10, 11), a la porosidad creada en la resina (3), y/o a la degradación del adhesivo polimerizado (11).

Probablemente, si la desmineralización del tejido dentinario ocurriese a la vez que la inserción de los componentes adhesivos ese problema clínico pudiera ser solucionado. Y ésta es la propuesta de los sistemas adhesivos autocondicionantes, que, al incorporar sustancias ácidas a su composición, promueven condicionamiento e infiltración simultáneos de los monómeros resinosos en la estructura dentinaria, haciendo que haya una interacción entre sistema adhesivo, smear layer y dentina (12). Tal mecanismo viene propiciando una optimización del tiempo de trabajo y reducción en la sensibilidad de la técnica adhesiva (13).

Sin embargo, el carácter hidrofílico del sistema adhesivo es la principal causa para la reducción de la resistencia adhesiva a lo largo del tiempo (14). La inclusión de monómeros altamente hidrofílicos en los sistemas adhesivos, particularmente en los autocondicionantes, transforma los adhesivos en membranas permeables extremadamente susceptibles a los efectos

degradantes del agua (15).

Frente a ese contexto, ¿Cómo aumentar la durabilidad de las restauraciones adhesivas? Este trabajo propone realizar una revisión de la literatura sobre la longevidad de los procedimientos restauradores adhesivos, buscando esclarecer los mecanismos envueltos en la degradación de la línea de unión, así como apuntar nuevos caminos o desafíos para la obtención de restauraciones adhesivas más durables.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Las Investigaciones en la durabilidad de la línea de unión de restauraciones adhesivas es relativamente reciente y implica los trabajos llevados en el laboratorio - análisis "*in vitro*" - así como pruebas en los animales o los seres humanos - análisis "*in vivo*".

Análisis "*in vivo*"

Al considerar la longevidad de las uniones adhesivas un asunto de gran interés, Sano y cols (16) evaluaron la durabilidad a lo largo del tiempo de la adhesión dentinaria de un primer autocondicionante (Clearfil Liner Bond II V / Kuraray). Para tanto, realizaron restauraciones en la cara vestibular de molares de un mono, lo cual fue sometido a exodoncias seriadas en los períodos siguientes: 24 horas, 6 meses y 1 año. Los dientes habían sido preparados para realización del test de resistencia adhesiva a la microtracción (RA μ T), cuyo resultado evidenció fuerzas adhesivas estadísticamente semejantes a lo largo del tiempo. Sin embargo, el análisis en microscopio electrónico de barrido (MEB) demostró un aumento en la porosidad de las interfaces de la unión tras 1 año en medio bucal, hecho que estaría relacionado con una posible degradación hidrolítica del agente de unión.

La duda respecto de la posibilidad de reducción de la resistencia adhesiva en la cavidad bucal a lo largo del tiempo fue lo que motivó a Hashimoto y cols (6) a desarrollar un estudio en humanos, en los cuales fueron realizadas restauraciones (Scotchbond Multi-uso/3M; Z100/3M) en los primeros molares temporales, los cuales permanecieron en medio bucal en intervalos que variaron entre 24 horas a 3 años. Al someter los especímenes restaurados a la metodología de RA μ T, se observó una reducción en la fuerza adhesiva a medida que el elemento dentario permanecía más tiempo en función. Las superficies fracturadas habían sido analizadas en MEB y evidenciaron áreas dentinarias con pocas fibras colágenas, visualización de rendijas y desalajo de las partículas inorgánicas del composite eventos estos resultantes de la degradación hidrolítica sobre el colágeno dentinario, lo cual pudo también haber sufrido disolución por enzimas proteolíticas existentes en la cavidad bucal, así como degradación de la resina compuesta.

Koshiro y cols (17) desarrollaron una evaluación de la RA μ T y análisis de las fracturas en MEB de restauraciones realizadas con un sistema adhesivo convencional (Single Bond/3M) y un autocondicionante (Unifill/GC) en molares de monos, "*in vivo*", con diferentes tiempos (1 día y 1 año). Se propuso medir la durabilidad de la adhesión alcanzada. Los resultados obtenidos revelaron que tras 1 año en el ambiente bucal, la RA μ T se demostró estadísticamente inferior, para ambos los agentes de unión. Posiblemente, repetidas fuerzas oclusales; presencia de fluido en los túbulos dentinarios; estrés térmico y configuración cavitaria fueron los motivos que contribuyeron para la degradación de las uniones resina-dentina "*in vivo*".

Análisis "*In vitro*"

Okuda y cols (3) verificaron los valores de RA μ T a la dentina humana de dos sistemas adhesivos (One Step/Bisco; Single Bond/3M) cuyos cuerpos de prueba fueron almacenados en medio acuoso por períodos de 24 horas, 3, 6 y 9 meses. Los resultados indicaron que a lo largo del tiempo, hubo una disminución de los valores de RA μ T. Adicionalmente, imágenes en MEB de los cuerpos de prueba fracturados apuntaron una predominancia de fallas envolviendo la base de la capa híbrida, tras 9 meses, indicando una degradación de la interfaz debido a la pérdida de componentes monoméricos y de fibras colágenas a través de la hidrólisis. Para el Single Bond, no se observó alteración morfológica de las fracturas en los diferentes intervalos de evaluación. De esa forma, la reducción de la fuerza adhesiva a través del tiempo se dio en función del decrecimiento de las propiedades físicas del agente de unión.

Empleando una metodología similar, Okuda y cols (4) estudiaron la durabilidad de la adhesión de los agentes de unión Liner Bond 2V (Kuraray) y FluroBond (Shofu). Se verificó una reducción estadísticamente significativa a lo largo del tiempo para el Liner Bond 2Ud. Tal resultado se debió, posiblemente, a la hidrólisis de las uniones adhesivas con la resina polimerizada de la capa híbrida.

Hashimoto y cols (9) evaluaron la durabilidad de la adhesión de un sistema adhesivo autocondicionante (One Up Bond F/Tokuyama) y un sistema adhesivo convencional (Gluma One Bond/Heraeus Kulzer) a través del test de RA μ T y análisis de las fracturas. Los cuerpos de prueba fueron almacenados en agua destilada a la temperatura de 37°C y sometidos a los tests en los intervalos de 24 horas, 6 meses y 1 año. Para ambos adhesivos, se verificó una caída significativa de los valores de resistencia, tras 1 año de almacenamiento en agua. Probablemente, por el hecho de los agentes de unión presentar constituyentes químicamente susceptibles, podrían ser afectados por la aposición del agua debido a la hidrólisis. Además, la acción hidrolítica sobre el colágeno habría llevado a fallos adhesivos.

Al utilizar la misma metodología citada, Hashimoto y cols (2) verificaron la durabilidad de adhesión del sistema adhesivo de 3 pasos, Scotchbond Multiuso (3M/ESPE). Tras 1 año, los cuerpos de prueba demostraron valores de resistencia adhesiva estadísticamente inferiores cuando fueron comparados al *baseline* (cuerpos de prueba iniciales). El almacenamiento de agua

produjo el deterioro del colágeno, remoción de monómeros resinosos no polimerizados del agente de unión o hidrólisis del PolyHEMA. Adicionalmente, fueron realizados análisis de la nanofiltración, los cuales habían demostrado un creciente aumento en este parámetro a lo largo del tiempo. De ese modo, el aumento de la nanofiltración y, consecuentemente de la porosidad, habría ocurrido debido a la sorción del agua, acelerando la degradación de la capa híbrida.

La resistencia adhesiva al cizallamiento también viene siendo adoptada como metodología para evaluación de la durabilidad de la adhesión, conforme investigación realizada por Konno y cols (18). Estos autores evaluaron cinco agentes de unión (Clearfil Liner Bond 2 V/Kuraray; Scotchbond Multiuso/3M ESPE; Optibond Solo/Kerr; Prime & Bond NT/Dentsply; Etch & Prime/Degussa), empleando superficies dentinarias bovinas como sustrato para adhesión. Al realizar los ensayos mecánicos tras 24 horas, 3 y 6 meses de almacenamiento en agua destilada, los resultados apuntaron una reducción significativa de la resistencia de unión sólo para el Optibond Solo. De acuerdo con los autores, ese adhesivo contiene sílice coloidal en escala micrométrica que había impedido la penetración en la dentina desmineralizada. Siendo así, el contenido acuoso puede haber penetrado en la matriz dentinaria desprotegida, desencadenando la degradación de las fibras colágenas y del material resinoso.

La presencia de la nanofiltración en las interfaces adhesivas, así como su expresión a lo largo del tiempo, fueron los criterios de evaluación de la durabilidad adoptados por Tay y cols (15), con el objetivo de estudiar un adhesivo experimental a base de acetona y libre del agua. Tras la realización de los procedimientos restauradores sobre superficies dentinarias humanas, los cuerpos de prueba fueron almacenados en saliva artificial por períodos de tiempo que variaron entre 24 horas, 1, 3, 6 y 12 meses. Las imágenes para evaluación de la nanofiltración fueron obtenidas a través de microscopía electrónica de transmisión (MET) y proporcionaron la visualización de depósitos de plata en la capa híbrida que aumentaron progresivamente en relación al tiempo de almacenamiento, evolucionando de un patrón reticular hasta la aposición de aglomerados, precursores de los canales de contenido acuoso (water tree). Posiblemente, este proceso se debió a una continua disolución de los componentes resinosos a través de esos canales de agua en la interfaz adhesiva.

Osório y cols (19) evaluaron la capacidad de optimización de la durabilidad de la adhesión de un sistema convencional (Adper Scotchbond 1/3M ESPE) a través de la realización del pretratamiento con EDTA en sustitución al ácido fosfórico, comparando los resultados con un adhesivo autocondicionante (Clearfil SE Bond/Kuraray). Para esto, se emplearon las metodologías de RAµT y análisis de las fracturas en MEB, usando como sustrato para adhesión superficies dentinarias humanas y bovinas. El proceso de envejecimiento de los cuerpos de prueba fue realizado a través de la inmersión en hipoclorito de sodio (NaOCl). Sólo el grupo sometido al condicionamiento con EDTA obtuvo resultados de resistencia adhesiva estadísticamente semejantes entre los cuerpos de prueba evaluados con 24 horas de inmersión en agua y aquel sometido al desafío en NaOCl. Los otros grupos evidenciaron valores estadísticamente inferiores. Probablemente, ocurrió una mejoría en la infiltración del adhesivo en la matriz colágena desmineralizada por el EDTA, una vez que este tratamiento permite la permanencia de contenido mineral residual en las fibras colágenas, aumentando la estabilidad de la matriz orgánica.

El termociclaje fue el método elegido por Inoue y cols (20) para suministrar el envejecimiento sobre las interfaces adhesivas de 3 adhesivos autocondicionantes (Clearfil Mega Bond/Kuraray; Unifil Bond/gc; Clearfil Liner Bond 2/Kuraray) en sustratos dentinarios humanos. Para averiguar la calidad de la adhesión, fueron realizados el test de RAµT y el análisis de las interfaces de unión a través de imágenes en MET. Los cuerpos de prueba fueron sometidos a desafíos térmicos variando entre 0, 10000, 20000, 30000, 50000 y 100000 ciclos. Los resultados mostraron estabilidad en los valores de resistencia adhesiva para el Clearfil Mega Bond, lo que no ocurrió para los otros adhesivos, los cuales tuvieron los valores de RAµT reducidos después de 100000 ciclos. Estos autores atribuyeron el resultado positivo del Clearfil Mega Bond al potencial de interacción química de sus monómeros junto a los cristales de hidroxiapatita que cercan las fibras colágenas en la capa híbrida, siendo estas uniones capaces de proteger el colágeno contra la degradación.

De Munk y cols (21) observaron la acción del almacenamiento en medio acuoso sobre la efectividad de seis sistemas adhesivos, a través de análisis de RAµT y MEB. Evaluaron agentes de unión de diferentes categorías: convencional de tres pasos - OptiBond FL/Kerr; convencional de dos pasos, - Single Bond/3M ESPE; autocondicionante de dos pasos - Clearfil SE/Kuraray; autocondicionante de un único paso - Adper prompt/3M ESPE; ionomérico de dos pasos - Fugibond LC/GC; ionomérico de un único paso - Reactmer/Shofu. Con un tiempo de almacenamiento de un año, los autores también analizaron si los especímenes (palillos) serían más susceptibles al ataque hidrolítico que las restauraciones con margen en esmalte (exposición directa o indirecta). Los resultados indicaron que el adhesivo de tres pasos se demostró estable a lo largo del tiempo, independientemente del tipo de exposición a los fluidos, caracterizándolo como el estado del arte en lo que se refiere a la adhesión dentinaria. Todos los otros adhesivos se mostraron inestables después del envejecimiento, aunque el Clearfil SE haya demostrado resultados aceptables tras la exposición indirecta.

Considerando la inestabilidad hidrofílica como uno de los motivos para resultados negativos en relación a la longevidad de sistemas adhesivos autocondicionantes, principalmente en función de la presencia del HEMA (Hidroxietil Metacrilato), Monticelli y cols (22) testaron la durabilidad de un sistema autocondicionante libre de HEMA, a través del análisis de la RAµT y MEB de cuerpos de prueba fracturados. La simulación del envejecimiento fue realizada a través de métodos mecánicos (5000/90 N la 250N) y desafío en NaOCl. Los resultados demostraron que el desafío en hipoclorito de sodio promovió una reducción en los valores de RAµT. Las imágenes en MEB demostraron la presencia de espacios en la interfaz de unión, posiblemente resultantes del agua residual no evaporada. De acuerdo con estos autores, eventos como éstos son suficientes para iniciar el proceso de biodegradación.

DISCUSIÓN

La biodegradación de la capa híbrida involucra una cascada de eventos "*in vivo*". El primer estadio empieza cuando la dentina es condicionada para remoción de la smear layer, exponiendo la trama colágena subyacente para formación de la capa híbrida. El segundo estadio envuelve la extracción de la resina que había infiltrado la matriz dentinaria vía espacios nanométricos rellenos por el agua en la capa híbrida. El tercer estadio envuelve el ataque enzimático a las fibras colágenas, llevando a una disolución de la capa híbrida (23).

A medida que esos eventos se suceden, la lenta absorción del agua por los constituyentes de la interfaz de unión puede resultar en disminución en la resistencia adhesiva debido a los efectos degradantes del agua sobre la resina y el colágeno; de la sorción del agua y/o hidrólisis del adhesivo, así como al ataque hidrolítico a las fibras colágenas en la base de la capa híbrida (16).

De acuerdo con Sano y cols (16) el colágeno puede contribuir más que el agente de unión para la resistencia adhesiva dentina-resina. Por este motivo, la hidrólisis de las fibras colágenas ejercería un importante papel en la reducción de la resistencia adhesiva a lo largo del tiempo (2, 9). Recientemente, esta degradación del contenido colágeno dentinario de la capa híbrida viene siendo atribuida a la acción de enzimas capaces de desleir las fibrillas de colágeno: las metaloproteinasas (MMP-2, -8, -9 y -20).

Tales sustancias, presentes en el tejido dentinario, vienen siendo implicadas como coadyuvantes en el proceso de envejecimiento de las restauraciones, siendo lentamente liberadas de la matriz dentinaria desmineralizada, contribuyendo para una degradación progresiva de la capa híbrida (15).

Considerando que la degradación de algunas áreas no completamente rellenas por adhesivo en la interfaz de unión puede ser derivada de metaloproteinasas provenientes de la matriz dentinaria, Pashley y cols (24) realizaron un estudio para evaluar la actividad colagenolítica de sustratos dentinarios en diferentes condiciones: dentina inalterada, dentina con inhibidores de proteasa-4, dentina como clorhexidina 0,2% y dentina condicionada con ácido fosfórico a 37% por 15 segundos. Los resultados demostraron que el grupo tratado con clorhexidina inhibió la actividad colagenolítica a valores próximos a cero.

Recientemente se demostró que la clorhexidina posee propiedades inhibitorias en relación a la MMP (25). El empleo de esta sustancia antes del uso de sistemas adhesivos convencionales puede tener un potencial adicional en prevenir la degradación de las fibras colágenas en la capa híbrida dentinaria, además de su ya conocido poder antimicrobiano (24).

Para Okuda y cols (3), la resina comprendida entre los espacios interfibrilares (monómeros resinosos) parece ser la porción más débil de la capa híbrida, susceptible a la degradación, siendo capaz de comprometer la longevidad de las restauraciones adhesivas. Así, para alcanzar una adhesión dentinaria durable y un sellado resistente a lo largo del tiempo, monómeros existentes en la composición de los agentes de unión deben ser convertidos en polímeros estables de alto peso molecular (16) durante el proceso de polimerización. De ese modo, la susceptibilidad de componentes resinosos a la hidrólisis, probablemente resulta de un bajo grado de conversión y de uniones cruzadas (3).

Después de la polimerización, el contenido acuoso proveniente del tejido dentinario puede reducir las fuerzas friccionales entre las cadenas poliméricas del agente de unión, ocurriendo una reducción de las propiedades mecánicas de la porción resinosa, haciendo el polímero absorber agua o hinchar, un proceso conocido como plasticización de la resina (26). Los efectos degradantes del agua sobre los polímeros ocurren a través de la sorción del agua, que actúa rompiendo las interacciones entre las cadenas poliméricas (27). Además, el silano parece ser la unión más débil entre las partículas de carga y la matriz resinosa en la presencia del agua (16).

El tipo de abordaje empleada por los diversos sistemas adhesivos disponibles en el mercado para alcanzar una adhesión satisfactoria se muestra como un factor relevante a ser considerado. En ese sentido, la estrategia simplificada para formación de la capa híbrida de los agentes autocondicionantes viene siendo apuntada como de durabilidad cuestionable, una vez que la existencia de monómeros de gran hidrofilia en su composición los haría bastante susceptibles a los efectos degradantes del agua (15). A partir de esta observación, el empleo clínico debería ser fundamentado para el uso de adhesivos menos hidrofílicos y, consecuentemente, menos susceptibles al deterioro por el agua.

En esta categoría se encuadran los sistemas adhesivos convencionales de tres pasos (ácido + primer + adhesivo), que permanecen produciendo una adhesión a la dentina de las más efectivas, siendo prácticamente insensibles a los efectos degradantes del agua. Bastante próximo de este "patrón oro" en lo que toca a la adhesión, se encuentran los adhesivos autocondicionantes de dos pasos de acidez mediana, tales como el Clearfil SE Bond (21), presentando adhesión química a la estructura dentaria.

Conforme Inoue y cols (20), el potencial de interacción química de monómeros resinosos de algunos agentes de unión junto a los cristales de hidroxiapatita que cercan las fibras colágenas en la capa híbrida sería capaz de proteger la trama colágena contra la acción del medio acuoso.

Además, los adhesivos con flúor en su composición pueden interrumpir la cadena de degradación hidrolítica en la interfaz

resina-dentina debido a la liberación de fluoretos, promoviendo restauraciones con una mayor longevidad (4).

Para que la longevidad de los procedimientos restauradores adhesivos sea evaluada de una forma efectiva, futuros estudios laboratoriales deberán intentar incluir el máximo de variables objetivando una mejor simulación de la situación clínica, ya que, en el cuerpo humano, sustancias externas (placa bacteriana, enzimas, bebidas ácidas y agentes químicos) que interactúan con la cavidad bucal pueden inducir reacciones aisladamente, o en conjunto, sobre las uniones adhesivas (2).

CONSIDERACIONES FINALES

La durabilidad de la adhesión se muestra determinante para el éxito del procedimiento restaurador adhesivo. Estudios clínicos y en laboratorios vienen apuntando hacia la importancia de la estabilidad del agente de unión a lo largo del tiempo. En este sentido, la utilización racional de los agentes de unión simplificados (autocondicionantes) merece atención, una vez que presentan componentes altamente hidrofílicos, susceptibles a la biodegradación. El empleo de la clorhexidina indica un nuevo camino para restauraciones más durables. Sin embargo, se necesita la realización de un mayor número de investigaciones buscando la elucidación de sus propiedades en lo referido a la longevidad de la interfaz dentina/restauración.

REFERENCIAS

1. Nakabayashi N.; Kojima, K.; Masuhara E.: The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J. Biomed. Mater. Res.* (1982); 16: 265-73.
2. Hashimoto M.; Ohno H.; Sano H.; Kaga M.; OGUCHI, H.: Degradation Patterns of Different Adhesives and Bonding Procedures. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* (2003b); 66: 324-30.
Okuda M.; Pereira P. N. R.; Nakajima M.; Tagami J.: Relationship Between Nanoleakage and Long-Term Durability of Dentin Bonds. *Oper. Dent.* (2001); 26: 482-490.
3. Okuda M.; Pereira P. N. R.; Nakajima M.; Tagami J. Pashley D. H.: Long-Term Durability of Resin Dentin Interface: Nanoleakage vs Microtensile Bond Strength. *Oper. Dent.* (2002); 27: 289-96.
4. Souza F. B. Influência da Remoção do Colágeno sobre a Adesão Dentinária. Recife, 2004 (Dissertação de Mestrado em Odontologia). Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2004.
Hashimoto M.; Ohno H.; Sano H.; Kaga M.; Oguchi H.; Endo K.: "*in vivo*" Degradation of Resin-Dentin Bonds in Humans over 1 to 3 years. *J. Dent. Res.* (2000); 76(6): 1385-91.
5. Spencer P.; Swafford J. R.: Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. *Quintessence Int.* (1999); 30: 501-7.
6. Tanaka J.; Nakai H.: Application of root canal cleaning agents having dissolving abilities of collagen to the surface treatment fir enhanced bonding of resin to dentin. *Dent. Mat. J.* (1993); 12 (02): 196-208.
7. Hashimoto M.; Ohno H.; Sano H.; Kaga M.; Oguchi H.: *in vitro* Degradation of Resin-dentin Bonds Analyzed by Microtensile Bond Test, Scanning and Transmission Electron Microscopy. *Biomaterials* (2003a); 24: 3795-803.
8. Toledano M.; Perdigão J.; Osorio R.; Osorio E.: Effect of Dentin Deproteinization on Microleakage of Class V Composite Restorations. *Oper. Dent* (2000); 25: 497-504.
9. Yiu C. K. Y.; García-Godoy F.; Tay F. R.; Pashley D. H.; Imazato S.; King N. M.; Lai S. C. N.: A nanoleakage perspective on bonding to oxidized dentin. *J. Dent. Res.* (2002); 81(9): 628-32.
10. Carvalho R. M.; Ciucchi B.; Sano H.; Yoshiyama M.; Pashley D. H.: Resin diffusion through demineralized dentin matrix. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo* (1999); 13(4): 417-24.
11. De Souza F. B.; Silva C. H. V.; Palma Dibb R. G.; Delfino C.S.; Beatrice L. C. S.: Bonding performance of different adhesive systems to deproteinized dentin - microTBS and SEM. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* (2005); 75B: 158-167.

12. El Zohairy A. A.; De Gee A. J.; Hassan F. M.; Feilzer A. J.: The effect of adhesives with various degrees of hydrophilicity on resin ceramic bond durability. *Dent. Mat.* (2004); 20: 778-87.
13. Tay F. R.; Hashimoto M.; Pashley D. H.; Peters M. C.; Lai S. C. N.; Yiu C. K. Y.; Cheong C.: Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J. Dent. Res.* (2003); 82(7): 537-41.
14. Sano H.; Yoshikawa T.; Pereria P. N. R.; Kanemura N.; Morigami M.; Tagami J.; Pashley D. H.: Long durability of dentin bonds made with a self-etching primer, "*in vivo*". *J. Dent. Res.* (1999); 78(4): 906-11.
15. Koshiro K.; Inoue S.; Tanaka T.; Koase K.; Fujita M.; Hashimoto M.; Sano H.: "*in vivo*" degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur. J. Bucal Sci.* (2004); 112: 368-75.
16. Konno A. N. K. Storage effect on shear bond strength of adhesive systems. *Braz. Dent. J.* (2003); 14(1): 42-7.
17. Osório R.; Erhardt M. C. G.; Pimenta L. A. F.; Osorio E.; Toledano, M.: EDTA treatment improves resin-dentin bonds resistance to degradation. *J. Dent. Res.* (2005); 84(8): 736-40.
18. Inoue, S.; Koshiro K.; Yoshida Y.; De Munk J.; Nagakane K.; Suzuki K.; Sano H.; Van Meerbeek B.: Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *J. Dent. Res.* (2005); 84 (12): 1160-4.
19. De Munk J.; Shirai K.; Yoshida Y.; Inoue S.; Van Landuyt K. L.; Lambrechts P.; Suzuki K.; Shintani H.; Van Meerbeek B.: Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesive to class 1 cavity dentin. *Oper. Dent.* (2006); 30(1), p. 456-65.
20. Monticelli F.; Osorio R.; Pisani-Proença J.; Toledano M.: Resistance to degradation of resin-dentin bonds using a one-step HEMA-free adhesive. *J. Dent.* (2007); 35: 181-6,
21. Sano H.: Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation to resin-dentin bonds. *J. Dent. Res.* (2006); 85(1): 11-4, 2006.
22. Pashley D. H.; Tay F. R.; Yiu C.; Hashimoto M.; Breschi L.; Carvalho R. M.; Ito S.: Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J. Dent. Res.* (2004); 83: 669-76.
23. Gendron R.; Brenier D.; Sorsa T; Mayrand D.: Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin. Diagn Lab. Immunol.* (1999); 6: 437-9.
24. De Munk J.; Van Landuyt K.; Pneumans M.; Poitevin A.; Lambrechts P.; Braem M.; Van Meerbeek B.: A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J. Dent. Res.* (2005); 84(2): 118-32.
25. Reis, A. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. *Dent. Mat.* (2004); 20: 778-87.