



PAULO MOREIRA VERMELHO

CIRURGIÃO-DENTISTA

"AVALIAÇÃO DO SUBSTRATO DENTINÁRIO IRRADIADO COM LASER DE Er:YAG: RESISTÊNCIA DE UNIÃO, PADRÃO DE FRATURA E ANÁLISE ULTRAMORFOLÓGICA"

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica-Área de Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giannini

PIRACICABA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos - CRB-8ª / 8099

Vermelho, Paulo Moreira.

V591a Avaliação do substrato dentinário irradiado com laser de Er:YAG: resistência de união, padrão de fratura e análise ultramorfológica / Paulo Moreira Vermelho. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Marcelo Giannini.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Microscopia eletrônica de varredura. 2. Microscopia eletrônica de transmissão. 3. Adesivos dentinários. 4. Dentina. I. Giannini, Marcelo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(eras/fop)

Título em Inglês: Evaluation of dentin irradiated with Er:YAG laser: bond strength, failure pattern and ultramorphology analysis

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Microscopy, Electron, Scanning. 2. Microscopy, Electron, Transmission. 3. Dentin-bonding agents. 4. Dentin

Área de Concentração: Dentística

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Marcelo Giannini, Carlos Alberto de Souza Costa, Adriana Bona Matos

Data da Defesa: 01-04-2011

Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 01 de Abril de 2011, considerou o candidato PAULO MOREIRA VERMELHO aprovado.

Prof. Dr. MARCELO GIANNINI

00 Profa. Dra, ADRIANA BONA MATOS

ALM ...

Prof. Dr. CARLOS ALBERTO DE SOUZA COSTA

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Jacks Jorge Junior, pela oportunidade de obter o título de Mestre nesta renomada instituição.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Giannini pelos ensinamentos, pelo exemplo de honestidade e dedicação, pela amizade e compreensão nos momentos difíceis, gerando oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

À minha esposa Alexandra pela sua infindável paciência, tolerância, tranquilidade, apoio e colaboração despendidos.

Aos meus pais que possibilitaram este importante aprimoramento profissional, auxiliando-me sempre, por toda vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior – CAPES, pela bolsa de mestrado concedida.

À Profa. Dra. Patrícia Freitas e ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia – LELO – USP, por terem permitido o uso do aparelho Kavo Key Laser 3.

Ao Instituto Butantan, às pesquisadoras Marta Maria Antoniazzi e Sylvia Mendes Carneiro e à técnica Simone Jared pela simpatia, competência, boa vontade e por terem permitido o uso do Microscópio Eletrônico de Transmissão.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron e ao técnico Sidney R. Araújo, sempre atencioso e competente, por terem permitido o uso do Microscópio Eletrônico de Varredura.

Aos funcionários da Área de Dentística Mônica Barnabé e Pedro César Justino e da Área de Materiais Dentários Marcos Blanco Canjiani e Selma Aparecida B. Segalla.

À Eliene Ap. Orsini Narvaes Romani do Departamento de Morfologia por todo o apoio concedido e pelos conhecimentos de Microscopia adquiridos.

Aos Professores da Àrea de Dentística: Prof. Dr. José Roberto Lovadino, Prof. Dr. Luis Roberto Marcondes Martins, Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar, Profa. Dra. Giselle Maria Marchi Baron, Prof. Dr. Luis Alexandre M. Sartini Paulillo e Profa. Dra. Débora Alves Nunes Leite Lima. Aos colegas de Turma de Mestrado e a todos os orientados do Prof. Dr. Marcelo Giannini, pela excelente convivência.

À Marina Di Francescantonio pela amizade e por ter sido a aluna que mais me apoiou e ajudou, facilitando extremamente a vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Marcelo Tavares Oliveira pela amizade conquistada e pelo privilégio de termos trabalhado juntos.

Ao Prof. Dr. André Reis pela cativante amizade, por todos os conhecimentos adquiridos e pelo imenso prazer de termos trabalhado juntos.

A todos que direta ou indiretamente tornaram possível a concretização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Resumo

O laser de Er:YAG tem alcançado ampla utilização na Odontologia e pela grande capacidade de corte dos tecidos dentais mineralizados, vem sendo utilizado principalmente na Dentística. Como seu uso é recente pouco se sabe sobre as consequências da irradiação dos tecidos dentais e seus efeitos nos procedimentos restauradores adesivos. Os objetivos deste trabalho foram avaliar os efeitos de dois parâmetros de irradiação com laser de Er:YAG (250mJ/4Hz e 160 mJ/10Hz) na resistência de união (RU) de sistemas adesivos e mensurar, em profundidade, os efeitos provocados pelas irradiações na dentina. Adicionalmente a área de união foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Os experimentos foram executados sobre superfícies dentinárias oclusais de terceiros molares hígidos planificadas com lixas de SiC (600) e os sistemas adesivos utilizados foram: XP Bond (Dentsply De Trey), Clearfil SE Bond (Kuraray Medical) e Adper SE Plus (3M ESPE). Para a avaliação da RU foi utilizado o ensaio de microtração e os espécimes testados foram analisados quanto ao padrão de fratura em microscopia eletrônica de varredura (MEV). A MET foi empregada na avaliação da ultramorfologia da interface de união e na mensuração da profundidade dos efeitos da irradiação. O grupo controle nos estudos de RU e na avaliação em MET da união dentina-resina foi a aplicação dos adesivos em dentina não irradiada. Os dados de RU foram submetidos à ANOVA (dois fatores) e teste de Tukey (5%). A RU dos três sistemas adesivos no grupo controle foi semelhante. O adesivo XP Bond mostrou similar RU entre o grupo controle e os irradiados, sendo o único adesivo que não teve a RU reduzida quando aplicado em dentina irradiada. Os parâmetros de irradiação do laser produziram efeitos similares na RU dos adesivos à dentina, exceto no parâmetro de irradiação 160 mJ/10Hz para o sistema adesivo Clearfil SE Bond, que não diferiu do XP Bond. Na análise em MEV os padrões de fratura foram predominantemente mistos e na análise da ultramorfologia da união, os grupos não irradiados apresentaram camada híbrida com espessuras variando de 1.0 a 3 µm. Nos grupos irradiados não houve formação de camada híbrida típica. Na mensuração da profundidade

do tecido irradiado foi utilizado o Teste t de Student, que não mostrou diferença estatística entre os dois parâmetros de irradiação testados (250mJ/4Hz: 5,8 µm ± 2,1 e 160 mJ/10Hz: 6,1 µm ± 1,2). Os resultados sugerem que a irradiação do tecido dentinário com laser de Er:YAG pode reduzir a RU, dependendo do sistema adesivo. A formação da camada híbrida foi comprometida quando a dentina foi irradiada, independente do parâmetro usado. Os efeitos em profundidade da irradiação produzida pelos dois parâmetros de irradiação da dentina foram similares, mostrando que os parâmetros afetam os procedimentos adesivos de modo semelhante.

Palavras chave: dentina, sistemas adesivos, resistência de união, laser de Er:YAG, MEV, MET.

Abstract

The Er:YAG laser has been widely used in Dentistry and because its ability to remove mineralized dental tissues, it is indicate to be used in Operative Dentistry. As the Er:YAG laser is recent, little is known about the consequences of dental tissues irradiation and their effects on adhesive restorative procedures. Thus, the objectives of this study were to evaluate the effects of two parameters of Er:YAG laser irradiation (250mJ/4Hz e 160 mJ/10Hz) on dentin bond strength (BS) of adhesive systems and measure, in depth, the effects promoted by laser irradiation. Additionally, the bonded interface area was analyzed under transmission electron microscopy (TEM). The experiments were performed on occlusal dentin surfaces of third molars that were flattened with sandpaper SiC (600). The adhesive systems used were: XP Bond (Dentsply De Trey), Clearfil SE Bond (Kuraray Medical) and Adper SE Plus (3M ESPE). For the evaluation of BS it was used the microtensile method and the fracture patterns of tested specimens were analyzed using the Scanning electron microscopy (SEM). The TEM was used for evaluation of bonded interfaces ultramorphology and to measure the depth of the effects produced by the laser irradiation. The control groups for the BS test and TEM observations were the adhesive application to non-irradiated surfaces. The Bs data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey test (5%). The BS of adhesives for the control group was similar. The XP Bond adhesive showed similar BS between control group and irradiated groups, with no reduction on BS on irradiated dentin. Irradiation parameters produced similar effects of adhesive systems on BS to dentin, except for the Clearfil SE Bond under 160 mJ/10Hz, which did not differ from XP Bond. The failure pattern examination under SEM showed predominance of mixed fracture and for the TEM observations, the control groups presented hybrid layer formation with thickness varying between 1.0 and 3.0 µm. For the irradiated groups, it was no possible to observe a uniform hybrid layer. The measurements of depth of the laser effects, it was used the Student T test that did not indicate statistical difference between laser parameters

(250mJ/4Hz: 5.8 μ m ± 2.1 e 160 mJ/10Hz: 6.1 μ m ± 1.2). The results suggested that the dentin irradiation with Er:YAG laser may reduce the BS, depending on the adhesive system. The hybrid layer formation was compromised when the dentin was irradiated, independent on laser parameter used. The measurements of depth of the laser ablation effects did not differ, indicating that the laser parameters can affect the adhesive restorative procedures similarly.

Key Words: dentin, bonding agents, bond strength, Er:YAG laser, SEM, TEM.

SUMÁRIO

PÁGINA

| INTRODUÇÃO | 1 |
|-----------------------|----|
| REVISÃO DA LITERATURA | 6 |
| Proposição | 17 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | 18 |
| RESULTADOS | 36 |
| DISCUSSÃO | 66 |
| CONCLUSÃO | 72 |
| REFERÊNCIAS | 73 |
| ANEXO | 88 |
| APÊNDICE | 89 |

1. Introdução

Pesquisas realizadas materiais odontológicos na área de têm proporcionado o desenvolvimento de produtos e técnicas que procuram estética das estruturas restabelecer funcão e dentais comprometidas. aproximando-se dos substratos dentais naturais. A partir do desenvolvimento dos monômeros resinosos por Oskar Hagger, inicialmente utilizados por Kramer e McLean (1952) e das pesquisas realizadas por Buonocore (1955), Bowen (1963), Fusayama (1979) e Nakabayashi (1982), os sistemas adesivos e as resinas compostas tornaram-se materiais universais de uso rotineiro para os clínicos. Eles substituíram os materiais restauradores metálicos e propiciaram uma Odontologia Restauradora Adesiva, conservadora em relação aos preparos cavitários, duradoura, que restabelece a aparência natural e o comportamento biomecânico dos elementos dentais.

Os materiais poliméricos atraíram a atenção dos pesquisadores visando melhorias nas propriedades mecânicas, físicas, estéticas e de manipulação. Devido às características conservadoras do preparo cavitário com o laser de Er:YAG, o material restaurador mais indicado para o restabelecimento da forma e função destes dentes é a resina composta, que adere aos tecidos dentais por meio de sistemas adesivos, que apresentam diferentes mecanismos para promover a união aos substratos dentais. Os sistemas adesivos contemporâneos têm um mecanismo básico que compreende o processo de troca e reposição de minerais removidos dos tecidos dentais mineralizados por monômeros resinosos, que após sua aplicação e polimerização promovem uma união micro-mecânica nas microporosidades criadas. Esse mecanismo de ação foi inicialmente descrito por Nakabayashi *et al.* (1982), e é denominado hibridização. Baseado na estratégia de união, dois mecanismos de ação para os sistemas adesivos estão atualmente em uso na Odontologia (Van Meerbeek *et al.*, 2003): a técnica com

condicionamento ácido separado, conduzida em dois ou três passos e os autocondicionantes de um ou dois passos clínicos.

Desde o desenvolvimento da primeira fonte de emissão de laser por Maiman em 1960, a idéia de que o laser é capaz de remover tecido cariado e realizar preparo cavitário, sem causar vibração, pressão, ruído ou dor, vem fascinando cientistas, clínicos e pacientes. Stern & Sognnaes (1964) e Goldman *et al.*(1964) relataram que o tecido dental poderia ser vaporizado por um cristal de rubi. Danos significativos foram observados após a irradiação, como a formação de crateras nas quais o esmalte encontrava-se fundido, com aspecto vitrificado e a dentina apresentava indícios de carbonização com necrose pulpar, decorrente do excessivo aquecimento tecidual. Estudos posteriores com outros tipos de laser, como o CO₂ e o Nd:YAG, proporcionaram resultados semelhantes, levando alguns pesquisadores a concluírem que o sistema a laser não poderia substituir de forma segura as técnicas convencionais de remoção de tecido dental (Lobene & Fine,1966).

Somente em 1988 foi possível realizar o primeiro preparo cavitário em esmalte e dentina, utilizando o laser de Er:YAG (Padhdiwala 1988). No ano seguinte, Hibst & Keller confirmaram o achado e acrescentaram que o laser Er:YAG, além de eficiente no corte dos tecidos dentais, não causava injúrias à polpa. Em 1997 os lasers da família Erbium receberam aprovação da *Food and Drug Administration (FDA)* para uso Odontológico. O laser Er:YAG vem sendo estudado como alternativa aos métodos tradicionais de remoção de tecido cariado, preparo cavitário, pré-tratamento da superfície, remoção de materiais restauradores e mais recentemente, pesquisa-se o seu potencial de prevenir a recorrência de cárie e desinfetar cavidades (Gabriel *et al.*, 2006).

Para análise histopatológica comparativa da polpa humana após preparos com instrumentos rotatórios ou laser de Er:YAG, Kina *et al.*, em 2008 selecionaram pacientes com pré molares e indicação de extração por motivos ortodônticos. Foram preparadas cavidades padronizadas classe I, executada a

proteção pulpar com cimento de hidróxido de cálcio, aplicada uma camada de cimento de ionômero de vidro, seguida da hibridização dos tecidos dentais e restauração com resina composta. O grupo controle não recebeu preparos cavitários. Quinze dias após os dentes forma extraídos, processados e analisados em microscopia ótica. Os autores concluíram que os preparos com instrumentos rotatórios causaram maiores alterações estruturais no tecido pulpar, embora sem induzir processos inflamatórios.

Inúmeros trabalhos são realizados com intuito de promover uma união forte e duradoura entre os materiais resinosos o esmalte e a dentina, e a grande maioria dos trabalhos utiliza substratos preparados com lixas de carbeto de silício ou instrumentos rotatórios convencionais. Sabe-se que a estrutura e composição do esmalte e da dentina apresentam modificações com a irradiação produzida pelo laser (Rohanizadeh *et al.*, 1999; Camerlingo *et al.*, 2004; Bachmann & Zezell, 2005). Somando-se a esta alteração físico-química dos substratos, a permeabilidade dentinária também é aumentada após a irradiação com laser de Er:YAG (Pecora *et al.*, 2000). Ao contrário da dentina preparada com instrumentos rotatórios, que apresenta uma camada de lama dentinária (ou *smear layer*), a superfície dentinária apresenta-se livre desta *smear layer* após a fotoablação (Oliveira *et al.*, 2007).

As alterações promovidas pela irradiação no substrato dentinário promovem diferenças estruturais dos tecidos dentais e podem interferir no desempenho dos sistemas adesivos idealizados para substratos não irradiados. Existem estudos controversos na literatura a respeito da efetividade da união aos tecidos irradiados com laser, quando comparada aos tecidos não irradiados (Visuri *et al.*, 1996; Burnett *et al.*, 2000; Ramos *et al.*, 2002; Aranha *et al.*, 2005; Dunn *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2007). Para que haja um melhor entendimento dos procedimentos de adesão aos tecidos irradiados com laser de Er:YAG é necessário que se compreenda não só os mecanismos de união ao esmalte e à dentina, mas também as alterações ocorridas na dentina após a irradiação com laser.

A utilização do laser de Er:YAG para remoção seletiva dos tecidos dentais tem se mostrado uma técnica bastante promissora dentro da Dentística Restauradora, como uma alternativa à utilização dos instrumentos rotatórios convencionais durante o preparo cavitário (Hibst et al., 1989). Possibilita a realização de preparos conservadores, que minimizam a utilização da anestesia, e diminui o desconforto produzido durante o tratamento com os instrumentos rotatórios, como brocas carbide e pontas diamantadas utilizados em turbinas de alta e baixa rotação (Aoki et al., 1998; Tagami et al., 2003). O laser de Er:YAG será uma ferramenta valiosa para o clínico caso o custo do equipamento se torne compatível com a realidade dos consultórios odontológicos. Diversos trabalhos demonstraram a efetividade dos lasers de Er:YAG na remoção seletiva de tecido cariado, preparo cavitário e também no condicionamento das superfícies dentais (Hibst & Keller, 1988; Paghdiwala., 1991; Matsumoto et al., 1996; Moritz et al., 1998; Lee et al., 2002; Staninec et al., 2003). Equipamentos e técnicas têm sido desenvolvidos como opção ao uso dos instrumentos rotatórios na remoção do tecido cariado e confecção do preparo cavitário (Los & Barkmeier, 1994; Hugo & Stassinakis, 1998; Oliveira et al., 2007a, b). No entanto, a utilização destas técnicas pode produzir alterações superficiais que podem interferir no processo de união à dentina.

Pelo fato de apresentar um grande conteúdo de água, a dentina é um tecido que possui forte interação com o laser de Er:YAG. Este emite um feixe laser com comprimento de onda de 2,94 µm, o qual está muito próximo do pico de absorção da água (3 µm). Durante a irradiação, a energia incidente é rapidamente absorvida pelas moléculas de água presentes na estrutura cristalina da dentina e nos componentes orgânicos, causando um súbito aquecimento e conseqüente vaporização da água. O aumento da pressão no interior dos tecidos irradiados leva a ocorrência de múltiplas micro-explosões, as quais constituem o princípio da ablação proporcionada pelo laser de Er:YAG. A ablação remove o tecido

dentinário de maneira não uniforme, ejetando tecido orgânico e inorgânico (Hibst & Keller, 1989; Keller & Hibst, 1989; Hossain *et al* 1999).

Marshall Jr. (1993) revisou a micro-estrutura da dentina e a descreveu como um complexo hidratado, composto por túbulos dentinários, por onde há saída de fluídos, circundados por uma zona peritubular altamente mineralizada, embebida por uma matriz intertubular, onde existem fibras colágenas predominantes do tipo I sendo este colágeno sustentado por cristais de apatita. Os túbulos dentinários variam em diâmetro e quantidade, dependendo da profundidade e localização da dentina avaliada. A dentina é composta em volume por 50% de mineral, 30% matéria orgânica e 20 % de fluído dentinário. A variação morfológica e estrutural da dentina, em relação à sua localização, pode afetar o procedimento adesivo explicando as variações dos testes de resistência adesiva. A composição pode mudar com a posição do dente e até mesmo dentro de um dente (Panighi & G'Sell, 1993). Fatores inerentes ao tecido dentinário podem influenciar os procedimentos adesivos e comprometer a longevidade dos procedimentos restauradores, uma vez que a variabilidade do substrato é considerável: idade do paciente, conteúdo mineral, profundidade da cavidade, umidade presente, vitalidade pulpar, disposição dos túbulos, e a condição desse substrato, normal ou alterado.

Os sistemas adesivos foram desenvolvidos para aplicação em superfícies preparadas por instrumentos rotatórios e técnicas convencionais. Somando-se todas as variáveis do complexo tecido dentinário com a crescente utilização do laser de Er:YAG e as alterações promovidas pelo efeito da irradiação no preparo cavitário, tornam-se indispensáveis trabalhos de pesquisa para avaliação de sistemas adesivos, com composições químicas variáveis, propícios para aplicação nas superfícies irradiadas com diferentes parâmetros do laser. Metodologias como microtração, análise dos padrões de fratura e observação das ultra-estruturas envolvidas na união dentina resina em microscopia eletrônica de varredura e transmissão podem gerar informações de fundamental importância para a Odontologia Restauradora Adesiva.

2. Revisão da literatura

2.1 Mecanismos de adesão à dentina

Existem dois métodos básicos para obtenção de retenção micromecânica entre dentina e a resina. A técnica com condicionamento ácido total remove completamente a *smear layer* e desmineraliza a subsuperfície intacta de dentina via condicionamento com ácido fosfórico. Após a remoção do ácido com água, aplicase um *primer* e a resina fluida adesiva, ou um passo único que representam adesivos simplificados, para o completo mecanismo de adesão (Yoshiyama *et al.*, 1998; Agostini, 2001; Perdigão & Geraldeli, 2003; Tay & Pashley, 2001; Perdigão & Geraldeli, 2003).

O segundo método, proporcionado pelos adesivos autocondicionantes, envolve a aplicação direta sobre a *smear layer* dentinária ou esmalte. Esses adesivos não utilizam o condicionamento ácido separado e não necessitam de lavagem para remoção do ácido fosfórico. O adesivo promove a incorporação da *smear layer* à camada hibrida. Os adesivos de passo único são uma mistura complexa de componentes químicos que tem as funções de condicionamento ácido, primer e resina adesiva. (Tay & Pashley, 2001; Perdigão & Geraldeli, 2003).

Na técnica do condicionamento ácido total, remove-se totalmente a *smear layer*, transformando tecido dental sólido em estrutura porosa (Nakabayashi & Pashley, 1998). A remoção da *smear layer* está baseada na baixa força coesiva que essa estrutura possui, transformando a união à dentina limitada às características da própria *smear layer* (Souza Júnior, 1995). Após o condicionamento ácido, a dentina superficial apresenta 13% da área com túbulos preenchidos por água, e 86% de dentina intertubular desmineralizada (Nakabayashi & Pashley, 1998), tornando a estrutura, antes pouco permeável, numa superfície com afinidade à penetração de monômero, normalmente o HEMA. O condicionamento com ácido fosfórico (30 a 40%), além de ser um método extremamente prático de ser

executado clinicamente, remove a *smear layer* da superfície e desmineraliza a dentina intacta em curto intervalo de tempo. Após esse processo, a dentina apresenta-se sem a maior parte da porção mineral, expondo a rede de fibrilas colágenas cobertas por proteínas não colágenas, proteoglicanas, altamente hidratadas (Nakabayashi & Pashley, 1998). Para viabilizar a penetração do adesivo neste substrato, é necessário um material hidrófilo que entre em contato com essas fibrilas.

O procedimento de secagem da dentina desmineralizada resulta no colapso das fibrilas colágenas, redução dos espaços interfibrilares e dificuldade para difusão dos monômeros ao redor das fibrilas. A técnica da adesão em substrato desmineralizado e umedecido foi proposta como forma de evitar o colapso das fibrilas colágenas e manter a permeabilidade da dentina após o condicionamento com ácido fosfórico (Gwinnett, 1992; Kanca 1992). O condicionamento ácido promove aumento da energia de superfície do esmalte, entretanto diminui a do substrato dentinário (Attal *et al.*, 1994). Desta forma, é necessário que o adesivo apresente menor tensão superficial que a energia de superfície livre da dentina desmineralizada (Erickson, 1992), pois a capacidade de molhamento do adesivo é fundamental para a penetração dos monômeros na dentina desmineralizada.

A incorporação de solventes nos adesivos foi um passo primordial para melhorar a difusão dos monômeros entre as fibrilas colágenas remanescentes. Além da capacidade de molhamento do adesivo, outro aspecto importante na formação do processo adesivo é a permeabilidade da dentina, que pode facilitar a difusão dos monômeros no substrato (Pashley & Carvalho, 1997). O movimento e a penetração dos monômeros do adesivo para dentro dos túbulos dentinários e da matriz dentinária intertubular desmineralizada são definidos como permeabilidade de substrato, melhor será a infiltração do adesivo para formação dos *tags* de resina no interior dos túbulos e da camada híbrida na dentina intertubular (Pashley & Carvalho, 1997).

Apesar da formação de longos *tags* de resina nos túbulos dentinários, a hibridização intertubular é o principal mecanismo de união, pois somente na embocadura dos túbulos ocorre a hibridização dos *tags* (Gwinnett, 1993). Comunicações laterais entre os túbulos dentinários também podem ser infiltradas pelos monômeros, resultando no preenchimento das anastomoses dos túbulos (Chappell *et al.*, 1994). Duas categorias de sistemas adesivos utilizam prévio condicionamento ácido, os de três etapas (ácido, *primer* e *bond*), e os de frasco único, cujo condicionamento ácido é similar, entretanto o *primer* e o *bond* estão contidos em um mesmo frasco. Para esses sistemas, após condicionamento ácido e lavagem, o adesivo deve ser aplicado na dentina umedecida, para evitar o colapso da rede de colágeno. A dificuldade desta técnica é estabelecer a quantidade de água residual ideal para aplicação do adesivo.

Estudos têm demonstrado que adesivos cujo solvente é a acetona têm comportamento superior em cavidades mais umedecidas, comparados com os adesivos à base de água ou álcool (Pereira *et al.*, 2001). Entretanto, excessiva quantidade de água pode causar a separação de fase do conteúdo do adesivo, resultando na diluição do solvente, na saída do monômero da solução do adesivo e prejudicando a formação da união (Tay *et al.*, 1996d). Caso a dentina esteja demasiadamente ressecada, os espaços interfibrilares diminuem e as fibrilas entram em contato. O colapso da rede fibrilar pode aumentar através da formação de ligações de pontes de hidrogênio entre os peptídeos das fibrilas colágenas vizinhas, contribuindo para o encurtamento e aumento da rigidez das fibrilas (Maciel *et al.*, 1996). Caso o adesivo encontre o substrato nessa condição de colapso, a velocidade e a taxa de difusão do monômero serão reduzidas, resultando na formação de uma pobre zona de interdifusão de resina (Pashley & Pashley, 1991)

Caso a resina não penetre adequadamente na dentina desmineralizada, poderá ocorrer a diminuição da resistência de união devido ao aumento da susceptibilidade à degradação hidrolítica das fibrilas colágenas expostas e não protegidas pelo componente mineral. (Pashley & Carvalho, 1997). Para que ocorra

a máxima efetividade da camada híbrida, o *primer* e o adesivo devem penetrar toda a área de dentina desmineralizada (Vargas *et al.*, 1997), e a falha na adequada penetração do monômero na dentina condicionada provoca a manutenção de uma camada rica em colágeno e pobre em estruturas inorgânicas. Essa camada desmineralizada e não preenchida por material resinoso, tende a sofrer hidrólise, levando a falha na união dentina/resina, resultando em diminuição da resistência de união e aumento na possibilidade de infiltração marginal. Neste caso, a permeabilidade exacerbada pelo condicionamento ácido pode deixar caminho aberto para a penetração de bactérias e seus produtos.

Visando contornar as dificuldades inerentes aos adesivos de condicionamento total, na década de 90 foi introduzido o conceito de primers autocondicionantes, com o sistema Scotchbond 2 (3M), porém este sistema foi desenvolvido para ser aplicado somente em dentina e exigia um passo separado de condicionamento ácido do esmalte. Atualmente os sistemas autocondicionantes condicionam e preparam esmalte e dentina simultaneamente (Van Meerbeek et al., 2001). A adesão ao substrato dentinário recoberto pela smear layer não obteve sucesso inicialmente, pois os adesivos não infiltravam além da smear layer. As formulações de novos adesivos autocondicionantes continham uma solução de Phenyl-P (2-metacriloiloetil-fenil hidrogênio fosfato) e HEMA com baixo pH (1,4 a 2,8), que possibilitavam a formação de um complexo hibridizado (Chigira et al., 1994; Watanabe, 1994).

Estudos de microscopia de transmissão mostram a formação de um complexo hibridizado que compreende uma zona superficial de *smear layer* hibridizada e uma subsuperfície de dentina intertubular hibridizada, também chamada de camada híbrida autêntica. A profundidade da região dentinária hibridizada pelo adesivo compreende 0,5 a 1,4 µm, enquanto a *smear layer* hibridizada depende da sua espessura inicial (Tay *et al.*, 2000a; Tay *et al.*, 2000b). A formação de uma fina camada hibrída, menor que a produzida pelos adesivos

com ataque ácido, não tem interferido na resistência de união (Yoshiyama *et al.*, 1998; Pereira *et al.*, 1999).

Um dos questionamentos no uso de adesivos autocondicionantes está relacionado com a neutralização precoce do *primer* ácido na *smear layer*, antes de atingir a dentina subjacente. Alguns estudos propuseram prévio tratamento da *smear layer* sem radical desmineralização da dentina (Miyazaki & Nakabayashi, 1999; Toida *et al.*, 1995), entretanto o monômero-ácido MDP (10-metacriloxidecil dihidrogênio fosfato) tem mostrado uma boa capacidade de penetrar além da *smear layer* com diferentes espessuras, desmineralizar e infiltrar-se na dentina intacta subjacente à *smear layer*, que foi incorporada na formação do complexo hibridizado (Tay *et al.*, 2000a; Tay *et al.*, 2000b).

Outros monômeros-ácidos derivados do ácido fosfórico sido têm desenvolvidos resultando em produtos com somente um frasco ou solução do adesivo dental para ser aplicado no tecido dental. Essa classe de adesivos autocondicionantes apresenta aumento na concentração de monômeros ácidos e água para melhorar a dissociação dos íons hidrogênio, os quais são necessários para uma efetiva desmineralização da smear layer e dos tecidos dentais. Enquanto a água do adesivo ajuda a produzir uma camada hibrida permeável (Pashley & Tay, 2002), a acidez do monômero pode comprometer a interface adesivocompósito autopolimerizável e até compósitos fotoativados, se estes tiverem longo tempo de contato com o adesivo (Sanares et al., 2001; Tay et al., 2001). Nesse processo ocorre uma reação de neutralização entre os adesivos ácidos e as aminas terciárias (básicas), que são ativadores da reação de polimerização, prejudicando a conversão de monômeros em polímeros.

Quando um *primer* autocondicionante é aplicado a uma superfície de dentina coberta por *smear layer*, ele condiciona através da *smear layer* para dentro da dentina mineralizada subjacente. Esse mecanismo tem sido descrito desde 1994, quando da utilização do Phenyl-P, o primeiro monômero ácido responsável por

preparar esmalte e dentina para união dos materiais restauradores resinosos aos substratos dentais (Chigira *et al.*, 1994; Watanabe *et al.*, 1994). Entretanto a diferença na acidez dos *primers* pode refletir diferenças no efeito de desmineralização e isso está relacionado com a habilidade de remover a lama dentinária ou *smear layer*, e o tampão de lama (*smear plug*) que oblitera a entrada dos canalículos dentinários (Okuda *et al.*, 2002). Os sistemas adesivos autocondicionantes têm uma formulação complexa entre componentes hidrófilos, hidrófobos, água, solventes, e a não evaporação ou volatilização destes últimos pode resultar em uma menor efetividade da união (Van Landuyt *et al.*, 2005).

Na adesão aos tecidos dentais o principal mecanismo é a retenção micro mecânica, mas a preservação da hidroxiapatita na camada híbrida submicrométrica pode servir como um receptor para uma adesão química adicional. Monômeros à base de ácido carboxílico como o 4-META, à base de fosfato como Phenil-P e o 10-MDP, tem um potencial de adesão química ao cálcio da hidroxiapatita (Eliades *et al.*, 1985; Burke & McCaughey, 1995; Eick *et al.*, 1997; Yoshida *et al.*, 2004). O efeito do autocondicionamento é importante para interagir com a lama dentinária resultante do preparo cavitário, promover um entrelaçamento micromecânico nas microporosidades do esmalte, e também através da hibridização da dentina.

As retenções micromecânicas são responsáveis pela resistência às forças que tentam romper a união dente-compósito, por exemplo, durante o esforço mastigatório ou em testes de resistência de união. Ainda, a hidroxiapatita exposta na superfície do esmalte e os cristais de hidroxiapatita que permanecem no colágeno são particularmente vantajosos, permitindo uma maior interação química com os monômeros funcionais no nível molecular, podendo diminuir ou retardar a infiltração marginal. A conservação da hidroxiapatita no colágeno pode também proteger o mesmo da hidrólise e degradação prematura da união (Hashimoto *et al.*, 2002b)

Comumente monômeros ácidos nos *primer*s e adesivos autocondicionantes são ésteres originados da reação de um álcool bivalente com ácido metacrílico e derivados dos ácidos carboxílico e fosfórico. Cada adesivo contém seu monômero funcional específico que determina seu desempenho adesivo (Yoshida *et al.*, 2004). Esses autores compararam a eficiência da interação química de três monômeros funcionais e concluíram que o potencial de união do 10-MDP à hidroxiapatita é significantemente maior que o 4-META; e o potencial de união do Phenil-P é o menor de todos.

Com relação à união com a dentina, é aceito que os sistemas adesivos autocondicionantes de dois frascos estão aptos a competir com os adesivos convencionais que utilizam o condicionamento ácido total com ácido fosfórico, não somente em relação à efetividade de união (Van Meerbeek *et al.*, 2003), mas também em termos de durabilidade (Sano *et al.*, 1999). Levando em consideração a menor sensibilidade de técnica, os mais rápidos procedimentos de aplicação, e o menor risco de nanoinfiltração (Sano *et al.*, 1995), os adesivos autocondicionantes de dois passos podem tornar-se uma alternativa padrão para união às estruturas dentais no futuro (De Munck *et al.*, 2005).

A degradação da interface de união resina-dentina, apesar do grande número de pesquisas sobre o tema, não teve seu mecanismo completamente elucidado e tem sido atribuída à degradação hidrolítica da resina adesiva e das fibrilas colágenas (Sano *et al.*, 1999; Hashimoto *et al.*, 2000; Giannini *et al.*, 2003). A adesão a um substrato vital e úmido, como a dentina, tem se mostrado deficiente (Marshall *et al.*, 1997; Carvalho *et al.*, 2004). Para que se consiga uma união confiável ao substrato dentinário com sistemas adesivos, é necessário que a fase mineral seja total ou parcialmente removida e substituída pela solução do adesivo. O sistema adesivo precisa infiltrar esta camada rica em fibrilas colágenas e polimerizar *in situ*, formando a denominada camada híbrida (Nakabayashi *et al.*, 1982). A técnica que emprega o condicionamento ácido total, e consequente remoção da *smear layer* e desmineralização do substrato dentinário subjacente,

tem sido considerada crítica (Pereira *et al.*, 1999; Spencer *et al.*, 2000; Hashimoto *et al.*, 2002b), pois uma infiltração incompleta pode ocorrer se a dentina se apresentar demasiadamente seca (*overdrying phenomenon*), ou a separação de fases dos componentes do sistema adesivo pode ocorrer na presença de umidade excessiva (*overwet phenomenon*) (Kanca, 1992; Tay *et al.*, 1996).

A presença de solventes orgânicos como o etanol e a acetona mostraram-se de fundamental importância para a remoção da água existente na região de dentina desmineralizada e substituição pelo sistema adesivo. Porém a incompleta evaporação da água e dos solventes pode ocorrer. A presença de água e solventes residuais pode interferir na polimerização dos adesivos, diminuindo a qualidade da união e permitindo a ocorrência de porosidades nanométricas na camada hibrída (Pashley *et al.*, 1998). A utilização de nitrato de prata amoniacal permite a visualização de espaços não infiltrados pelo adesivo, e de grupos polares hidrófilos que permitem a formação de pontes de hidrogênio com moléculas de água (Sano *et al.*, 1995a; Tay *et al.*, 2002a).

2.2 Substrato dentinário e laser de Er:YAG.

Existem na literatura diversos trabalhos que investigaram a efetividade da união aos tecidos irradiados com o laser de Er:YAG (Visuri *et al.*, 1996; Martínez-Insua *et al.*, 2000; Burnett *et al.*, 2001; Ceballos *et al.*, 2001; Ramos *et al.*, 2002; Ceballos *et al.*, 2002; Otsuki *et al.*, 2002; Lupi-Pegurier *et al.*, 2003; Manhart *et al.*, 2004; Bertrand *et al.*, 2004; Trajtenberg *et al.*, 2004; De Souza *et al.*, 2004; Giachetti *et al.*, 2004; Dunn *et al.*, 2005; Aranha *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2007). Frequentemente nos deparamos com resultados conflitantes no que diz respeito à qualidade da união aos substratos irradiados, quando comparada à união observada nos substratos com técnicas convencionais de preparos cavitários com instrumentos rotatórios.

Um fato importante a ser ressaltado é que durante o processo de fotoablação, tanto o esmalte quanto a dentina sofrem alterações estruturais,

morfológicas e químicas devido ao aumento na temperatura (Fowler & Kuroda, 1986; Camerlingo *et al.*, 2004; Sheth *et al.*, 2004; Bachmann & Zezell, 2005). Alterações no conteúdo mineral e orgânico foram relatadas (Fowler & Kuroda, 1986; Ceballos *et al.*, 2002; Bachmann & Zezell, 2005) e desempenham um papel importante no processo de união ao esmalte e à dentina. Pesquisas indicam a redução do conteúdo de carbonato, o aumento da concentração de íons hidroxila, formação de pirofosfatos e desnaturação das proteínas.

O laser de Er:YAG emite um comprimento de onda de 2,94 µm,que coincide com o pico máximo de absorção da água e da hidroxiapatita presente nos tecidos minerais. Neste momento, a energia é absorvida pela água da porção superficial do tecido, que é aquecida até atingir sua temperatura de vaporização. Esse processo aumenta a pressão interna dos tecidos e gera microexplosões que levam à ejeção do substrato em forma de partículas microscópicas (Padhdiwala, 1988; Gimbel, 2000), caracterizando o fenômeno da ablação dos tecidos dentais. Estudos tem demonstrado um aumento na resistência ácida do esmalte e da dentina, após a irradiação do esmalte com o laser de Er:YAG. Essa alteração do tecido dental irradiado poderia contribuir para inibir a formação de cáries ao redor das cavidades preparadas com laser de Er:YAG (Ceballos et al., 2001b). Apesar deste efeito benéfico, esta menor solubilidade em meio ácido pode trazer consegüências negativas para a adesão, guando da utilização de sistemas adesivos que utilizam primers auto-condicionantes (Ramos et al., 2004). Ainda não foi esclarecido se este potencial aumento na resistência à desmineralização poderia dificultar a ação do ácido fosfórico nos procedimentos adesivos.

Li *et al.* (1992) observaram em MEV que as superfícies dentinárias irradiadas pelo laser de Er:YAG mostravam-se sem fraturas ou carbonização e irregulares, atributo que imaginaram favorável para o processo de adesão. Visuri *et al.* (1995), após testes de cisalhamento da resina composta em superfícies dentinárias irradiadas, obtiveram valores superiores ao do grupo tratado com brocas carbide em alta rotação. Por microscopia eletrônica, observaram túbulos

dentinários desobstruídos, sugerindo a exclusão do condicionamento ácido no processo de adesão.

Eduardo *et al.* (1996) em estudo *in vitro*, avaliaram o aspecto micromorfológico do esmalte dental irradiado pelo laser de Er: YAG com diferentes energias e a resistência de união de sistemas adesivos após condicionamento ácido e irradiação com laser de Er:YAG. Obtiveram valores maiores de resistência de união para o grupo que recebeu condicionamento ácido, concluindo que o laser de Er:YAG apesar de produzir microporosidades, na ausência do condicionamento ácido não apresentava adequada resistência de união ao esmalte.

Resultados semelhantes foram obtidos por Bispo (2000), que encontrou valores de resistência à tração superiores para a associação do laser com o condicionamento com ácido fosfórico. Chimello *et al.* (2001) estudaram a resistência de união do sistema Single Bond (3M) por microtração em superfícies dentinárias tratadas com laser de Er: YAG, com e sem condicionamento ácido e os melhores resultados foram obtidos nas amostras condicionadas com ácido. Segundo Robles *et al.* (2000), o condicionamento ácido é fundamental para reduzir a microinfiltração, tanto para preparos convencionais com alta rotação, quanto para os realizados com laser de Er: YAG. Ceballos *et al.* (2002) contra indicaram o uso do laser de Er: YAG como alternativa ao condicionamento ácido, pois em seu experimento observaram menores valores de resistência de união por microtração quando utilizado o laser isolado ou associado ao ácido, comparado ao grupo controle sem o uso do laser.

Ramos *et al.*, em 2002, avaliaram o efeito do laser de Er:YAG na resistência de união à dentina do sistema autocondicionante Clearfil Liner Bond 2V e dos sistemas com condicionamento ácido prévio Excite e Gluma One Bond. Foram utilizados terceiros molares humanos. Os dentes foram incluídos e a dentina foi exposta com o auxílio de lixas de carbeto de silício nas granulações 120, 400 e 600, para uma homogeneidade da *smear layer*. A área para a realização da união foi delimitada e os sistemas de adesivos aplicados sobre a *smear layer* formada pelas lixas ou sobre a dentina irradiada após a aplicação das lixas. Os sistemas de

união foram aplicados de acordo com as recomendações dos fabricantes e os dentes foram restaurados para o ensaio de cisalhamento. A análise estatística indicou uma redução significativa nos valores de união para o Excite, porém os outros adesivos também apresentaram uma diminuição dos valores de união nos grupos tratados com laser de Er:YAG. Os autores concluíram que a utilização do laser afeta negativamente, em maior ou menor grau, os valores de resistência de união dependendo do sistema adesivo utilizado.

Moreto *et al.*, em 2010 observaram em MET nos grupos irradiados uma camada de dentina superficial difusa, com aspecto granular, na qual as fibrilas colágenas apresentam-se desnaturadas. Essa alteração transforma-se gradativamente em uma zona de transição onde as fibrilas apresentam-se levemente mais organizadas até atingir uma região inalterada. Na região subsuperficial é possível observar bandas colágenas denotando uma organização das fibrilas e ausência de alteração proveniente da irradiação com laser.

Oliveira *et al.*, (2010) testaram três sistemas adesivos: Single Bond Plus (3M ESPE), Clearfil Protect Bond (Kuraray) e Clearfil Tri-S Bond (Kuraray) com parâmetros de irradiação de 120mJ/4Hz, 200mJ/6Hz e grupos controle tratado com lixas de SiC. Observaram em microscopia de varredura confocal laser a formação de uma camada híbrida não uniforme na dentina irradiada, independente do protocolo de irradiação e do sistema adesivo testado. Nos grupos controle uma camada híbrida uniforme e regular foi observada para todos os sistemas adesivos.

Na revisão de literatura observa-se que os substratos irradiados com o laser de Er:YAG apresentam características peculiares e distintas dos substratos não irradiados e materiais restauradores específicos devem ser desenvolvidos, ou selecionados materiais existentes mais propícios para executar procedimentos adesivos nessa situação.

3. Proposição

Os objetivos deste estudo foram:

 Avaliar a resistência de união de três sistemas adesivos ao substrato dentinário irradiado com dois parâmetros diferentes de laser de Er:YAG: 250mJ/4Hz e 160mJ/10Hz.

- Avaliar e classificar os padrões de fratura em microscopia eletrônica de varredura.

- Analisar a ultramorfologia e o padrão da nanoinfiltração à dentina na área de união de três sistemas adesivos em dois parâmetros de laser de Er:YAG, utilizando microscopia eletrônica de transmissão.

- Mensurar os efeitos em profundidade da irradiação em dois parâmetros diferentes de irradiação com laser de Er:YAG, utilizando a microscopia eletrônica de transmissão.

4. Materiais e métodos

4.1. Coleta dos dentes

Os dentes utilizados neste estudo tiveram parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp, processo nº 049/2010 (anexo 1). Cento e dez terceiros molares hígidos coletados foram selecionados e armazenados em solução de timol 0,1% por um período não superior a seis meses e limpos com curetas periodontais (Neumar Instrumentos Cirúrgicos, São Paulo, SP)



Figura 4.1.1 Dentes limpos e hidratados.

4.2. Materiais selecionados

Para hibridização do tecido dentinário foram selecionados três sistemas adesivos: XP Bond (Dentsply DeTrey, GmbH, Konstanz, Alemanha), adesivo convencional de dois passos, Clearfil SE Bond (Kuraray Medical, Okayama, Japão) e Adper SE Plus (3M ESPE, St Paul, USA), ambos autocondicionantes de dois passos (Figura 4.2.1). Para restauração foi utilizado o compósito filtek Z 350 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA). Todos os materiais foram utilizados de acordo com as instruções dos fabricantes. A composição e número de lote dos materiais estão presentes na Tabela 4.2.1



Figura 4.2.1 A: Sistema adesivo XP Bond. B: Sistema adesivo Adper SE Plus. C: Sistema adesivo Clearfil SE Bond. D: Compósito Z Filtek 350 cor A2.

Tabela 4.2.1: materiais, composições e números de Lote.

| Materiais | Composições | Lotes |
|-----------------|-----------------------------------|---------------|
| XP Bond | TCB, PENTA, UDMA, TEGDMA, | |
| | HEMA, estabilizadores, etil-4- | 0911002364 |
| | dimetilaminobenzoato, CQ, sílica | |
| | amorfa funcionalizada. | |
| Adper SE Plus | Liquido A: HEMA, água, | |
| | surfactante, pigmento róseo. | |
| | Liquido B: UDMA, TEGDMA, | Bond 8BJ |
| | trimetacrilato hidrofóbico, HEMA, | Primer 8BH |
| | fosfato de metacrilato, Zircônia | |
| | nanoparticulada, CQ. | |
| Clearfi SE Bond | Primer: MDP, HEMA, | |
| | Dimetacrilatos hidrófilos, CQ, | |
| | água. | Bond 01321A |
| | Adesivo: MDP, HEMA, Bis-GMA, | Primer 00896A |
| | dimetacrilatos hidrófilos, | |
| | micropartículas. | |
| Filtek Z350 | Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA, | |
| | TEGDMA, partículas inorgânicas | N127315 |
| | de Zircônia/sílica. | |

Abreviações: TCB: dimetacrilato carboxílico modificado; PENTA: dipentaeritritol monofosfato penta acrilato; UDMA: uretano dimetacrilato; TEGDMA: trietilenoglicol dimetacrilato; HEMA: 2-hidroxietilmetacrilato; CQ: canforoquinona; MDP: 10-metacriloiloxidecil dihidrogênio fosfato; Bis-GMA: bisfenol-glicidil-metacrilato; Bis-EMA: bisfenol-polietileno glicol dimetacrilato.

4.3. Preparo dos dentes, grupos experimentais e técnica de irradiação

Os elementos dentais utilizados no estudo tiveram suas superfícies oclusais em esmalte removidas em politriz metalográfica (APL4, Arotec, Cotia, SP) com lixas de carbeto de silício (3M, Sumaré, SP), inicialmente com granulação n°180 e n°600 na finalização. Com o uso das lixas foi possível expor a dentina superficial planificada e simular a smear layer para posterior realização dos procedimentos de irradiação, hibridização e restauração dos dentes irradiados e grupos controle.

Os grupos controle correspondem aos adesivos aplicados na dentina apenas tratada com as lixas e os grupos experimentais envolveram a irradiação da dentina com laser de Er:YAG nos parâmetros de 250mJ/4Hz e 160mJ/10Hz. Nove grupos foram formados, constituídos por três sistemas adesivos e três tratamentos avaliados.

Nos grupos irradiados a superfície planificada de dentina tratada pelas lixas, recebeu irrradiação de laser de Er:YAG (Key Laser 3, Kavo, Biberach, Alemanha), com comprimento de onda de 2,94 µm e largura do pulso de 250-500 µs (Figura 4.3.1). A peça de mão utilizada foi a #2065, posicionada perpendicularmente à superfície da dentina (90º) e a 12 mm da amostra, trabalhando no modo focado. Neste caso, o *spot size* (tamanho do ponto) é de 0,063 cm. A irradiação foi realizada com movimentos de varredura mésio-distal e vestíbulo-lingual abrangendo toda a área delimitada.

A irradiação foi realizada sob refrigeração constante com água a uma taxa de 5 mL/min (Figura 4.3.2). Após a irradiação os substratos dentinários tratados receberam a aplicação dos sistemas adesivos de acordo com as instruções dos respectivos fabricantes. Em seguida, blocos de 6 mm de altura do compósito Filtek Z350 (3M ESPE, St Paul, EUA) na cor A2 foram confeccionados sobre a dentina hibridizada de forma incremental. Os materiais resinosos foram fotopolimerizados com o aparelho led Radii-cal (SDI, Baywater, Victoria, Austrália), com intensidade luminosa aproximada de 900 mW/cm², verificada periodicamente em radiômetro (Demetron/Kerr, Danbury, CT, EUA).

Após os procedimentos restauradores, a porção radicular foi removida na politriz com lixas de SIC granulação 180, obtendo-se espécimes com 12 mm no longo eixo do dente, 6 mm de resina composta e 6 mm de remanescente dental.



Figura 4.3.1 A: laser de Er:YAG Key Laser 3, Kavo. B: detalhe do painel de controle.



Figura 4.3.2 Dente no momento da irradiação.

4.4. Microtração

Para esta parte do estudo foram selecionados setenta e dois terceiros molares (n=8) que após preparo, restauração e armazenamento por 24 horas em estufa, foram fixados em placas de acrílico com 40x40 mm e 5,7 mm de espessura utilizando-se cera pegajosa (Asfer, São Caetano do Sul, SP). O conjunto foi acoplado à cortadeira de precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e os espécimes foram seccionados utilizando-se um disco diamantado de alta concentração (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA). As secções foram realizadas em 1,2 intervalos de mm nos sentidos mésio-distal vestíbulo-lingual е perpendicularmente à interface de união, obtendo-se corpos de prova com formato de paralelepípedos com área na secção transversal de aproximadamente 0,9 mm². Os espécimes obtidos foram acondicionados em tubos Eppendorfs contendo algodão e água destilada, ambiente com 100% de umidade, identificados e armazenados em estufa a 37° C até ao momento do ensaio de microtração, não excedendo 24 horas de armazenamento.

Foram selecionados aleatoriamente 48 espécimes por grupo, metade foi testada e apresentada nesta tese e o restante armazenado em saliva artificial por um ano para análise após um ano. Os espécimes foram fixados individualmente no dispositivo específico para microtração com cola à base de cianoacrilato (Super Bonder Gel e Ativador 7456-Loctite Brasil Ltda- Itapevi, SP) e testados em máquina de ensaio universal (EZ test, Shimadzu Co, Tóquio Japão) a 0,5mm/min (Figura 4.4.1) e os valores expressos pela máguina (Quilograma-força – Kgf) foram anotados. Após o teste, os espécimes foram cuidadosamente removidos do dispositivo de microtração, e as mensurações dos lados da secção transversal realizadas com um paquímetro digital (Starret 727-6/150, Starret, Itú, SP) para cálculo da área de união. Posteriormente os dados foram utilizados para o cálculo dos valores em Mega Pascal (MPa) e tabulados para a realização da análise estatística, que foi conduzida pela Análise de Variância (dois fatores) e teste de Tukey (α =0,05). Previamente à analise estatística, foi realizada a análise exploratória dos dados observando-se que os mesmos não violaram as pressuposições da Análise de Variância.



Figura 4.4.1 Máquina de ensaio universal EZ test.
4.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise dos padrões de fratura em MEV a cola à base de cianocrilato foi cuidadosamente removida utilizando-se alicate de corte (Beltools, Belenus, Jundiaí, SP) e as duas metades foram posicionadas verticalmente em stubs metálicos com as superfícies fraturadas voltadas para cima (Figura 4.5.1). Após a montagem dos stubs, as amostras foram cobertas com fina camada de ouro no metalizador (Desk II, Denton Vacuun Inc., NJ, EUA), sob corrente de 40 mA por 100 segundos e observadas em microscópio eletrônico de varredura de baixo vácuo (JSM 5900 LV, Jeol, Peabody, MA, EUA), com tensão de 25Kv e aumentos de 100x, 800x e 1000x (Figura 4.5.2).

As Fraturas foram classificadas em:

Tipo I - Fraturas mistas

Tipo II - Fraturas coesivas na resina composta

Tipo III - Fraturas coesivas no adesivo

Tipo IV - Fraturas coesivas na dentina

Tipo V – Fraturas adesivas

As fraturas foram consideradas mistas na ocorrência de duas ou mais fraturas diferentes no mesmo paralelepípedo, na condição das fraturas menos prevalentes atingirem um mínimo de 20% do total da área analisada. Fraturas coesivas na resina composta são caracterizadas pelo predomínio de partículas de carga e aglomerados de partículas nas imagens em MEV. O compósito utilizado contém uma combinação de nanopartículas de sílica não aglomerada e não agregada de 20 nm e nanoaglomerados, ligados livremente, de zircônia e sílica com cargas de tamanho entre 5 a 20 nm e o tamanho da partícula aglomerada

varia entre 600 e 1400 nm. A porcentagem de carga é de 78,5% em peso e frente à predominância dessas partículas e de acordo com as características descritas, a Figura 5.2.2 foi classificada como fratura coesiva no compósito.

As fraturas coesivas no adesivo mantêm semelhanças com as coesivas no compósito e sua principal característica é a observação das partículas de carga que variam entre 5 a 20 nm (Reis *et al.*, 2007b), mas em quantidade muito menor, de 10 a 20%, não aglomeradas e por vezes com resquícios das partículas de carga da resina composta (Figuras 5.2.3 A e B). Podem se apresentar na forma de lâminas ou escamas conforme observado na Figura 5.2.3 A. As Fraturas coesivas na dentina apresentam túbulos nítidos e sem a presença de *tags* ou vestígios de adesivo (Figuras 5.2.4 A e B).

As fraturas adesivas exibem riscos de lixa transversais (Figuras 5.2.5) provenientes do preparo dos dentes com lixas de SiC 600, indicando que a fratura ocorreu na região de união dentina-sistema adesivo. Embora com discreta ocorrência neste trabalho, podem se apresentar na forma de túbulos semi obliterados pelo sistema adesivo, acompanhados de alguns riscos de lixa. Túbulos com *tags* resinosos nítidos e bem definidos projetados na camada superficial da dentina também podem ser observados neste tipo de fratura.



Figura 4.5.1 Stubs com os espécimes metalizados. A: Stub, B: Espécime.



Figura 4.5.2 Microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 5900 LV.

4.6. Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A MET permitiu a realização das análises da área de união dentina-resina e mensurar os efeitos em profundidade da irradiação com os dois parâmetros de irradiação do laser de Er:YAG. Trinta e oito terceiros molares foram utilizados nesta parte da tese. O preparo dos dentes, a aplicação do laser nos dois parâmetros e o uso dos materiais ocorreu de forma similar ao executado no ensaio de microtração e os dentes restaurados (n=2) foram seccionados no sentido ocluso-apical em cortadeira de precisão, obtendo-se cortes com 0,9 mm de espessura. As fatias foram imersas em solução de nitrato de prata por 24 horas e em solução reveladora sob luz fluorescente para análise da nanoinfiltração. Em seguida foram fixados em solução Karnovsky, pós-fixados em tetróxido de ósmio, desidratados em concentrações crescentes de álcool (30%, 50%, 70%, 80%, 90%) e imersas em álcool absoluto. Para infiltração e inclusão os cortes foram imersos em solução de óxido de propileno e resina epóxica posteriormente incluídos em resina epóxica em moldes de silicone.

Os blocos obtidos foram posicionados no ultramicrótomo (Leica UC6, Leica Microsystems Gmbh, Wetzlar, Alemanha) (Figura 4.6.1) para obtenção de cortes ultrafinos de 80-90 nm de espessura obtidos com navalha de diamante (Diatome, Biel, Suiça) (Figura 4.6.2). Estes foram armazenados em telas de cobre de 100 mesh e posicionadas em microscópio eletrônico de transmissão (Leo 906 E, Zeiss, Thornwood, NY, EUA), para observações em aumentos entre 1100x e 10000x (Figura 4.6.3). Com esta metodologia (Reis *et al.*, 2007) observamos a ultramorfologia da área de união formada por sistemas adesivos na dentina para os grupos controle e os grupos irradiados com os parâmetros 250mJ/4Hz e 160mJ/10Hz.

Na preparação dos espécimes e na análise da subsuperfície para mensuração da profundidade da irradiação nos parâmetros 250mJ/4Hz e 160mJ/10Hz, apenas a dentina foi irradiada e os dentes não foram restaurados e

31

nem preparados para a avaliação da nanoinfiltração (n=10). Nos cortes ultrafinos executados nos espécimes foram obtidas imagens em 3000x de aumento. Para o cálculo da profundidade (em µm) da irradiação com laser de Er:YAG nos dois parâmetros, as imagens foram impressas e a partir da barra de proporção presente na imagem, calculamos a profundidade da irradiação. Com paquímetro digital (Beltools, Belenus, Jundiaí, SP) as 10 imagens selecionadas para cada parâmetro foram mensuradas, em três pontos diferentes e calculada a média.

Na análise estatística desses dados, foi realizada a análise exploratória no PROC LAB do SAS que testa todas as pressuposições da Análise de Variância: aditividade do modelo, homogeneidade das variâncias, normalidade dos erros. Na comparação dos dois grupos foi utilizado o Teste t de Student (α =0,05)



Figura 4.6.1 Ultramicrótomo Leica EM UC6.



Figura 4.6.2 Navalha de diamante Diatome. A: corpo da navalha, B: reservatório para água, C: lâmina.



Figura 4.6.3 Microscópio eletrônico de transmissão Leo 906E

5. Resultados

5.1. Microtração

A Análise de Variância indicou que os fatores adesivos (p<0.0001), tratamento (p<0.0001) e interação entre eles (p=0.0009) influenciaram significativamente a resistência de união. Detalhes da análise estatística no Apêndice 1. A Tabela 5.1 apresenta as médias e as comparações estatísticas entre os grupos.

| Tabela 5 | .1 Média | (desvio | padrão) | dos | valores | de | resistência | de | união | (em | MPa) |
|-----------|----------|---------|----------|--------|----------|----|-------------|----|-------|-----|------|
| obtidos d | e acordo | com os | tratamen | itos r | ealizado | s. | | | | | |

| | Tratamento | | | | | | |
|------------------|----------------|----------------|---------------|--|--|--|--|
| Adesivo | Controle | Laser 160/10 | Laser 250/4 | | | | |
| Adper SE Plus | 48,6 (6,3) Aa | 22,6 (5,9) Bb | 20,1(3,3) Bb | | | | |
| Clearfil SE Bond | 54,8 (10,5) Aa | 31,7 (6,1) Bab | 22,4 (5,7) Bb | | | | |
| XP Bond | 53,2 (4,3) Aa | 41,4(14,3) Aa | 44,7 (9,7) Aa | | | | |

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

O teste de Tukey mostrou que os adesivos aplicados na dentina apenas tratada com lixas (grupos controle) não diferiram entre si (p>0,05). Entretanto quando aplicados em dentina irradiada com laser, os adesivos Adper SE Plus e o Clearfil SE Bond no parâmetro 250mJ/4Hz, tiveram redução significativa da resistência de união (p<0,05). A resistência de união foi similar na comparação entre as irradiações para esses dois adesivos (p>0,05).

O adesivo XP Bond mostrou similar resistência de união na comparação entre o grupo controle e os irradiados (p>0,05). Na irradiação com o parâmetro de

160mJ/10Hz, o adesivo XP Bond obteve maior resistência de união que o adesivo Adper SE Plus (p<0,05) e foi semelhante ao Clearfil SE Bond (p>0,05). Na irradiação com 250mJ/4Hz, os adesivos autocondicionantes (Adper SE Plus e Clearfil SE Bond) tiveram menor resistência de união à dentina que o adesivo XP Bond (p<0,05).

5.2. Padrões de Fratura

Os resultados da análise dos padrões de fratura estão descritos no gráfico 5.2.1 e as Figuras 5.2.1 a 5.2.5 ilustram os tipos de fratura obtidos neste estudo. O tipo de fratura mais observado nos espécimes testados foi o misto (Tipo I). Os tipos II (coesiva no compósito) e III (coesiva no adesivo) também foram observados em todos os grupos. Fraturas tipo IV (coesiva em dentina) foram observadas no grupo controle do adesivo XP Bond. O tipo V (falha adesiva) foi observado nos grupos controle de todos os adesivos.



Gráfico 5.2.1: Resultados da análise dos padrões de fratura em porcentagem. Tipo I: mista, II: coesiva no compósito, III: coesiva no adesivo, IV: coesiva em dentina e V: adesiva. CL: Clearfil SE Bond, SE: Adper SE Plus, XP: XP Bond, 250: parâmetro de irradiação 250mJ/4Hz e 160: parâmetro de irradiação 160mJ/10Hz.



Figuras 5.2.1 MEV A: representativa da falha tipo I (mista), constituída por falhas tipo II (coesiva no compósito), tipo III (coesiva no adesivo) e tipo V (adesiva). Aumento de 100X. MEV B: ampliação da região delimitada e exemplificando região de transição entre a fratura tipo III e tipo V. Aumento de 800X.



Figuras 5.2.2 MEV da fratura tipo II. Aumento de 1000X. Círculo: Nanoaglomerados de zircônia e sílica.



Figuras 5.2.3 MEV A e B: fraturas tipo III. Aumento de 1000X. MEV A: Lâminas ou escamas (setas). MEV B: Partículas de carga não aglomeradas (círculo); resquícios de resina composta (setas).



Figuras 5.2.4 MEV A e B: fraturas tipo IV. Aumento de 1000X. Setas: túbulos.



Figuras 5.2.5 MEV A e B: fraturas tipo V. Aumentos de 100X e 1000X. Setas: riscos de lixa (SiC 600).

5.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Na avaliação da subsuperfície do tecido irradiado com laser Er:YAG para mensuração da profundidade da irradiação nos parâmetros 250mJ/4HZ e 160mJ/10Hz, o teste T de Student não mostrou diferença estatística entre os parâmetros estudados (p=0,5594). A tabela 5.3.1 apresenta as médias (em µm) obtidas para os parâmetros 250mJ/4Hz e 160mJ/10Hz. As figuras 5.3.1 e 5.3.2 são representativas para os dois parâmetros do laser e mostram a forma de avaliação dos efeitos da irradiação.

Tabela 5.3.1 Médias da profundidade da irradiação (em µm) nos parâmetros utilizados.

| Irradiação | Média | Desvio Padrão |
|------------|-------|---------------|
| 160mJ/10Hz | 6,1a | 1,2 |
| 250mJ/4Hz | 5,1a | 1,1 |

Letras iguais indicam ausência de diferença estatística (p=0,5594).



Figura 5.3.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) da dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ e com média de espessura de 5,8 \pm 2,1 µm (entre as setas). A dentina irradiada é caracterizada pelas trincas. A presença da superfície do túbulo intacta demonstra a menor ação do laser sobre a dentina peritubular com maior conteúdo inorgânico e menos água. Aumento de 3000X, T: túbulo.



Figura 5.3.2 MET da dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ e com média de espessura de 5,2 \pm 1,2 μ m (entre as setas). A dentina irradiada é caracterizada pelas trincas. Aumento de 3000X, T: túbulo.

Na análise da ultramorfologia da área da união dentina-resina observaramse camadas híbridas bem definidas para todos os adesivos nos grupos controle (Figuras 5.3.3, 5.3.4, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.15 e 5.3.16). A aplicação do sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond na dentina tratada apenas com lixas mostrou formação de camada híbrida com espessura de aproximadamente 1,0 µm (Figuras 5.3.3 e 5.3.4) e o adesivo autocondicionante Adper SE Plus formou camada híbrida de aproximadamente 1,2 µm de espessura (Figuras 5.3.15 e 5.3.16). No grupo controle, o adesivo XP Bond, que pertence à categoria dos adesivos convencionais de dois passos com condicionamento ácido prévio, apresentou camada híbrida com aproximadamente 3,0 µm de espessura (Figuras 5.3.9 e 5.3.10)

Na observação da ultramorfologia da área de união dentina-resina por meio de MET, nos grupos irradiados, não identificamos formação de camada híbrida espessa, bem definida e uniforme. A hibridização da dentina irradiada, independente do protocolo de irradiação e do adesivo aplicado (Figuras 5.3.5 a 5.3.8, 5.3.11 a 5.3.14 e 5.3.17 a 5.3.20) foi irregular, com algumas áreas inexistentes e de pequena espessura, mas não observamos fendas ou espaços na linha de união, estando a dentina irradiada e o adesivo justapostos e em íntimo contato. O parâmetro de irradiação 160mJ/10Hz resultou em intensa deposição de nitrato de prata na porção subsuperficial do tecido irradiado, abaixo da linha de união somente para os adesivos XP Bond e Adper SE Plus (Figuras 5.3.11, 5.3.12, 5.3.17 e 5.3.18).

47



Figura 5.3.3 MET do Clearfil SE Bond na dentina tratada com lixas de SiC 600. Camada híbrida com aproximadamente 1.0 µm de espessura (entre as setas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.4 MET do Clearfil SE Bond na dentina tratada com lixas de SiC 600. Camada híbrida com aproximadamente 1.0 µm (entre as setas). Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.5 MET do Clearfil SE Bond na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ. Ausência de camada híbrida ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.6 MET do Clearfil SE Bond na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ. Ausência de camada híbrida ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.7 MET do Clearfil SE Bond na dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ. Ausência de camada híbrida ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.8 MET do Clearfil SE Bond na dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ. Ausência de camada híbrida ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.9 MET do XP Bond na dentina tratada com lixas de SiC 600. Camada híbrida com aproximadamente 3.0 µm de espessura (entre as setas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, R: compósito T: túbulo.



Figura 5.3.10 MET do XP Bond na dentina tratada com lixas de SiC 600. Camada híbrida com aproximadamente 3.0 μ m (entre as setas). Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.11 MET do XP Bond na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ. Camada híbrida mínima e irregular ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada (setas vermelhas). Ocorreu intensa deposição de nitrato de prata no tecido irradiado, abaixo da linha de união sistema adesivo/tecido dentinário irradiado (setas amarelas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, R: compósito, T: túbulo.



Figura 5.3.12 MET do XP Bond na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ. Camada híbrida mínima e irregular (setas vermelhas), ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Ocorreu intensa deposição de nitrato de prata no tecido irradiado, abaixo da linha de união sistema adesivo/tecido dentinário irradiado (setas amarelas). Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.13 MET do XP Bond na dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ. Ausência de camada híbrida, ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. A presença da superfície do túbulo intacta demonstra a menor ação do laser sobre a dentina peritubular com maior conteúdo inorgânico e menos água (setas amarelas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, R: compósito, T: túbulo.



Figura 5.3.14 MET do XP Bond na dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ. Ausência de camada híbrida, ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. A presença da superfície do túbulo intacta demonstra a menor ação do laser sobre a dentina peritubular com maior conteúdo inorgânico e menos água. Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.15 MET do Adper SE Plus na dentina tratada com lixas de SIC 600. Camada híbrida com aproximadamente 1.1 μ m (entre as setas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.16 MET do Adper SE Plus na dentina tratada com lixas de SIC 600. Camada híbrida com aproximadamente 1,1 µm (entre as setas). Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.17 MET do Adper SE Plus na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ. Ausência de camada híbrida, ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Ocorreu intensa deposição de nitrato de prata no tecido irradiado, abaixo da linha de união sistema adesivo/tecido dentinário irradiado (setas amarelas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, IR: dentina irradiada, T: túbulo.


Figura 5.3.18 MET do Adper SE Plus na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10HZ. Ausência de camada híbrida, ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Ocorreu intensa deposição de nitrato de prata no tecido irradiado, abaixo da linha de união sistema adesivo/tecido dentinário irradiado (setas amarelas). Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.19 MET do Adper SE Plus na dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ. Ausência de camada híbrida, ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Aumento de 3000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.



Figura 5.3.20 MET do Adper SE Plus na dentina irradiada no parâmetro 250mJ/4HZ. Ausência de camada híbrida, ocorrendo apenas justaposição entre o adesivo e a dentina irradiada. Aumento de 10000X, AL: camada de adesivo, D: dentina, T: túbulo.

6. Discussão

Estudos têm demonstrado que a irradiação dos tecidos dentais mineralizados com laser de Er:YAG provocam a redução da resistência de união dentina-resina (Eduardo *et al.*, 1996; Moritz *et al.*, 1998; Armengol *et al.*, 1999; Martinez-Insua *et al.*, 2000; De Munck *et al.*, 2002). A redução da resistência de união dos adesivos dentinários tem sido relacionada à série de alterações que a dentina sofre com a irradiação do laser (Lee *et al.*, 2002; Van Meerbeek *et al.*, 2003 b; Oliveira *et al.*, 2007). Como os adesivos atuais interagem com essas estruturas alteradas, a explicação da redução da resistência de união à dentina deste estudo, o XP Bond não foi afetado pelos parâmetros de 160mJ/10Hz e 250mJ/4Hz de irradiação do laser de Er:YAG, quando comparado ao grupo controle, que foi representado pela dentina apenas tratada com lixas de SiC.

Alguns estudos têm indicado aumento ou manutenção da união dentinaresina após a irradiação do tecido com diferentes tipos de laser (Lin *et al.*,1999; Moritz *et al.*,1996; Visuri *et al.*,1996; Kataumi *et al.*,1998; Bertrand *et al.*,2006). Neste estudo o adesivo XP Bond apresentou valores de resistência de união de $53,2 \pm 4,3$ MPa para o grupo controle em concordância com o estudo de Saboia *et al.* (2009) que mostrou valor de 49,8 \pm 7,0 MPa e semelhante aos obtidos nos estudos de Vermelho *et al.* (2008) com valores de 45,4 \pm 9,4.

O sistema adesivo XP Bond tem uma combinação exclusiva de vários monômeros (PENTA, HEMA, TCB, TEGDMA e UDMA), numa solução com o solvente álcool butílico terciário. A manutenção dos valores de resistência de união pode ser um indicativo de que essa combinação química seja adequada para aplicação em tecido dentinário irradiado por laser de Er:YAG nos parâmetros testados. Este estudo tem sequência de armazenamento de um ano dos espécimes restaurados e propiciará importantes informações complementares.

Os outros adesivos testados são autocondicionantes e os valores de resistência de união foram afetados pela irradiação da dentina. Esses sistemas não utilizam o condicionamento com ácido fosfórico previamente à aplicação do adesivo, que pode ser outra hipótese para a manutenção dos valores de resistência de união do adesivo XP Bond. O adesivo autocondicionante Adper SE Plus contém monômeros ácidos (com grupamento derivado do ácido fosfórico), enquanto o adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond apresenta o monômero MDP. Entre esses monômeros ácidos, alguns autores tem mostrado que o MDP produz mecanismo de adesão à dentina por meio de reação química entre o monômero MDP e a hidroxiapatita (Yoshida *et al.*,2004; Fukegawa *et al.*,2006). A irradiação de 160mJ/4Hz possivelmente preservou mais a estrutura mineral da dentina e isso pode ter refletido na similar resistência de união entre o adesivo Clearfil SE Bond e o XP Bond.

A camada de dentina modificada pela ação do laser apresenta menor dureza e menor módulo de elasticidade que a dentina não irradiada (Lee *et al.*,2002). Outros autores confirmam essa evidência relacionando a fragilidade do tecido irradiado com as falhas coesivas em dentina irradiada em teste de resistência de união (Martinez-Insua *et al.*,2000; Kameyama *et al.*,2002; De Munck *et al.*,2002; Aizawa *et al.*,2006; Oliveira *et al.*,2007b). Discordando dos estudos mencionados, a análise dos padrões de fratura em MEV do nosso estudo obteve predomínio de fraturas mistas, exceto para o grupo Clearfil SE Bond controle com 43% de fraturas mistas obtivemos poucas ocorrências de fraturas mistas. Na análise das fraturas mistas tiveram predomínio de fraturas coesivas no adesivo e no compósito.

Alguns autores especulam que a ausência de infiltração do adesivo é a principal explicação para o baixo desempenho de muitos sistemas adesivos ao substrato dentinário irradiado com laser (Kameyama *et al.*,2002; Lee *et al.*,2007; Esteves-Oliveira *et al.*,2007; De Carvalho *et al.*,2008), os estudos que fornecem

imagens da área de união em alta magnificação são muito importantes para ilustrar os dados obtidos nos ensaios mecânicos de resistência de união. O uso da MET para o estudo da adesão de materiais restauradores odontológicos aos tecidos dentais mineralizados é recente e poucos autores têm utilizado esta técnica de microscopia aplicada em materiais odontológicos (Tay *et al.*,2000a, Carvalho *et al.*,2004; Reis *et al.*,2007; Mine *et al.*,2009; Vermelho *et al.*,2009 Moretto *et al.*,2010). A análise da área de união utilizando MET, em aumentos de 3000x e 10000x, permitiu identificar as estruturas envolvidas, avaliar o grau de interação entre a dentina e os sistemas adesivos e mensurar a profundidade da irradiação na dentina.

Nos grupos controle, podem-se notar claramente as estruturas: dentina intertubular mineralizada, a dentina peritubular (intratubular), camada híbrida e camada de adesivo (Figuras 5.3.3, 5.3.4, 5.3.9, 5.3.10, 5.3.15 e 5.3.16). A camada híbrida variou de espessura entre os adesivos. O adesivo XP Bond formou a maior camada híbrida (3,0 μ m) devido ao condicionamento ácido prévio. Os adesivos autocondicionantes formaram camadas híbridas mais finas e de espessura semelhante (Clearfil SE Bond: 1,0 μ m e Adper SE Plus: 1,2 μ m), provavelmente relacionado à similar condição de acidez da solução dos primers.

A análise em MET demonstrou que a camada híbrida formada na dentina irradiada com laser de Er:YAG difere da formada na dentina preparada com brocas ou lixas abrasivas, como previamente demonstrado por alguns estudos (Martinez-Insua *et al.*,2000; Ceballos *et al.*,2002; Bertrand *et al.*,2004; Lee *et al.*,2007; Oliveira *et al.*,2007b). Para todos os grupos irradiados não houve formação de camada híbrida bem definida e uniforme, como observado para o grupo controle. O adesivo XP Bond na dentina irradiada no parâmetro 160mJ/10Hz (Figuras 5.3.11 e 5.3.12) apresentou camada híbrida mínima e em regiões esparsas.

Oliveira *et al.*, (2010) irradiaram a dentina com o laser de Er:YAG nos parâmetros 120mJ/4Hz e 200mJ/6Hz e avaliaram a área de união dos sistemas adesivos Single Bond Plus (3M ESPE), Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical) e S3 Bond (Kuraray Medical), utilizando microscopia de laser confocal. Eles relataram que a morfologia da união modificou com a irradiação da superfície dentinária, tornando-se irregular, independente do parâmetro de irradiação. Algumas áreas não formaram camada híbrida e outras formaram espessas ou finas, irregulares, dependendo da região do espécime analisada. Em concordância com o estudo de Oliveira *et al.*, (2010), é possível notar solução de continuidade, sem fendas ou *gaps*, entre a camada de adesivo e a estrutura dentinária, mesmo aquela que sofreu irradiação. Os adesivos parecem ter a capacidade de penetração no tecido irradiado, mas dependendo da forma como o tecido foi irradiado e em certas trincas não é possível a infiltração do agente de união.

Dentro da metodologia MET foi proposto avaliar o padrão da nanoinfiltração dos íons prata na área de união dentina-resina na tentativa de identificar locais de problemática infiltração e polimerização do adesivo e espaços vazios. Nessa análise da nanoinfiltração foi encontrada deposição de nitrato de prata no tecido dentinário irradiado subsuperficial apenas no parâmetro 160mJ/10Hz para os sistemas adesivos Adper SE Plus e XP Bond (Figuras 5.3.11, 5.3.12, 5.3.17 e 5.3.18). Em termos de nanoinfiltração da interface de união, a análise das imagens sugere boa interação entre adesivos e a dentina irradiada.

Entretanto numa profundidade de 3 a 5 µm ocorreu deposição maciça da prata sugerindo o preenchimento dos espaços vazios ou alguma afinidade do íon prata pelos tecidos alterados e que estão expostos naquelas trincas. Clinicamente margens localizadas em dentina podem ter sua longevidade afetada, se executadas nas referidas condições, visto que pode ocorrer infiltração de fluidos orais nestas fendas expostas, entre as camadas dentinárias.

Embora com dosagem de energia e taxa de repetição diferente (160mJ/10Hz e 250mJ/4Hz), a profundidade de irradiação foi similar entre os parâmetros utilizados. Isso também se refletiu nos resultados de resistência de união, o qual não mostrou diferenças entre os parâmetros para todos os adesivos (Figuras 5.3.1 e 5.3.2), é provável que os efeitos das irradiações na dentina sejam semelhantes. É possível verificar os efeitos da irradiação, em profundidade, em imagens de microscopia eletrônica de varredura e transmissão, mas nunca os efeitos de diferentes parâmetros de irradiação foram mensurados e estudados (Moretto *et al.,*2010; Oliveira *et al.,*2010).

Na mensuração do tecido dentinário afetado pela irradiação, foi considerada dentina alterada aquela que apresentava fraturas ou trincas provocadas pela irradiação. A importância dessa mensuração foi analisar isoladamente o substrato, sem aplicação do adesivo e extrapolar o que pode ocorrer com aplicação do agente de união no tecido irradiado. Como a camada híbrida formada pelos adesivos é menor que a profundidade do tecido alterado, todo adesivo infiltrado no dente estará na dentina irradiada. É uma possível explicação para a baixa resistência de união de alguns sistemas adesivos na dentina irradiada com laser de Er:YAG. Uma forma de tratamento dessa dentina irradiada ou a remoção dessa fina camada (de no máximo 7 µm) poderia melhorar a interação dos sistemas adesivos com a dentina, eliminando o problema de baixa resistência de união em dentina irradiada.

O uso clínico do laser de Er:YAG ainda não é amplo em Odontologia Restauradora, por uma série de questões e limitações, que iniciam pelo custo do equipamento, até à necessidade de mais estudos para o emprego clínico deste tipo de luz. Diversas vantagens têm sido relatadas com o uso do laser de alta potência, por exemplo, a redução de 90% na necessidade de administração de anestesia local, promove remoção de tecido cariado, reduz o uso de instrumentos rotatórios, remoção de materiais restauradores como compósitos e ionômeros de vidro (Pinheiro, 2010). Este estudo avaliou o desempenho de três sistemas

adesivos, quanto à resistência de união e formação de camada híbrida, e também analisou os efeitos da irradiação na dentina. Esses resultados obtidos serão importantes bases de consulta bibliográfica para entendimento da adesão aos tecidos irradiados com laser de Er:YAG.

7. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos e análises estatísticas executadas, pode-se concluir que:

 A irradiação do substrato dentinário com laser de Er:YAG não provocou a redução da resistência de união do adesivo XP Bond. Entretanto, na comparação entre o grupo controle e os irradiados, a resistência de união à dentina dos adesivos Clearfil Se Bond e do Adper SE Plus reduziu para os dois parâmetros de irradiação testados.

• A análise dos padrões de fratura em microscopia eletrônica de varredura apresentou fraturas predominantemente mistas.

 A avaliação da área de união em microscopia eletrônica de transmissão demonstrou que os parâmetros de irradiação testados não permitiram formação de camada híbrida bem definida para nenhum adesivo. Nos grupos controle, os adesivos formaram camada híbrida com espessura uniforme, que variou de 1.0 a 3.0 µm, dependendo do adesivo.

• Na mensuração do tecido irradiado o efeito produzido pelos parâmetros 250mJ/4Hz e 160mJ/10Hz causaram alterações morfológicas na dentina, que foram detectadas até à profundidade de 5,8 \pm 2,1 μ m e 6,1 \pm 1,2 μ m, respectivamente. A diferença entre esses valores não apresentou diferença estatística.

Referências*

Agostini FG, Kaaden C, Powers JM. Bond strength of self etching primers to enamel and dentin to primary teeth. Pediat Dent. 2001; 23(6): 481-6

Aizawa K, Kameyama A, Kato J, Amagai T, Takase Y, Kawada E, *et al.* Resin bonding to dentin irradiated by high repetition rate Er:YAG laser. Photomed Laser Surg. 2006; 24: 397-401.

Aoki A, Ishikawa I, Yamada T, Otsuki M, Watanabe H, Tagami J *et al.* Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. J Dent Res. 1998; 77(6): 1404-14.

Arrais, CAG, Giannini M, Nakajima M, Tagami J. Effects of additional and extended acid etching on bonding to caries-affected dentine. Eur J Sci. 2004; 112: 458-464.

Aranha AC, Turbino ML, Powell GL, Eduardo C de P. Assessing microleakage of class V resin composite restorations after Er:YAG laser and bur preparation. Lasers Surg Med. 2005; 37(2): 172-7.

Aranha AC, Eduardo C de P, Gutknecht N, Marques M M, Ramalho KM, Apel C. Analysis of the interfacial micromorphology of adhesive systems in cavities prepared with Er,Cr:YSGG, Er:YAG laser and bur. Microsc Res and Tech. 2007; 70(8): 745-751.

Armengol V, Jean A, Weiss P, Hamel H. Comparative in vitro study of the bond strength of composite to enamel and dentin obtained with laser irradiation or acidetch. Laser Med Sci 1999; 14(3): 207-15.

Attal JP, Asmussen G, Degrange M. Effects of surface treatment on the free energy of dentin. Dent Mater. 1994; 10: 259-264.

*DE ACORDO COM A NORMA DA FOP/UNICAMP, BASEADA NO MODELO VANCOUVER. ABREVIATURA DOS PERIÓDICOS EM CONFORMIDADE COM O MEDLINE.

Bachmann L, Zezell DM. Estrutura e composição do esmalte e da dentina. Tratamento térmico e irradiação laser. São Paulo: Editora Livraria da Física-USP; 2005. v. 1. p. 271-300.

Bertrand MF, Hessleyer D, Muller-Bolla M, Nammour S, Rocca JP. Scanning electron microscopic evaluation of resin-dentin interface after Er:YAG laser preparation. Lasers Surg Med. 2004; 35(1): 51-7.

Bispo, LB. Condicionamento do esmalte com Er:YAG laser e ácido fosfórico: resistência à tração e microscopia eletrônica de varredura. [Dissertação]. São Paulo: USP/FOUSP; 2000.

Bowen RL. Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. J Am Dent Assoc. 1963; 66: 57-64.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res. 1955; 34(6): 849-53.

Burke FJT, McCaughey AD. The four generations of dentin bonding. Am J Dent. 1995; 8: 88-92.

Burnett LH Jr, Conceição EN, Pelinos JE, Eduardo CD. Comparative study of influence on tensile bond strength of a composite to dentin using Er:YAG laser, air abrasion, or air turbine for preparation of cavities. J Clin Laser Med Surg. 2001; 19(4): 199-202.

Camerlingo C, Lepore M, Gaeta GM, Riccio R, De Rosa A, De Rosa M. Er:YAG laser treatments on dentine surface: micro-Raman spectroscopy and SEM analysis. J Dent. 2004; 32(5): 399-405.

Carvalho RM, Tay FR, Giannini M, Pashley DH. The effects of pre-and post-bonding hydration on bond strength to dentin. J Adhes Dent. 2004; 6: 13-17.

Ceballos L, Osorio R, Toledano M, Marshall GW. Microleakage of composite restorations after acid or Er-YAG laser cavity treatments. Dent Mater. 2001; 17(4): 340-6.

Ceballos L, Toledano M, Osorio R, Garcia-Godoy F, Flaitz C, Hicks J. ER-YAG laser pretreatment effect on in vitro secondary caries formation around composite restorations. Am J Dent. 2001b; 14(1): 46-9.

Ceballos L, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Marshall GW. Bonding to Er-YAGlaser-treated dentin. J Dent Res. 2002; 81(2): 119-22.

Chappell RP, Cobb CM, Spencer P, Eick JD. Dentinal tubules anastomosis. A potential factor in adhesive bonding? J Prosthet Dent. 1994; 72: 183-188.

Chimello DT, Palma RG, Borsatto MC, Pécora JD, Corona SAM. Efeito do laser de Er:YAG sobre a resistência adesiva de um sistema restaurador. In Anais da 18ª Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2001. Águas de Lindóia, Brasil. São Paulo: SBPqO; 2001. p. 157. [Resumo B 220].

Chigira H, Yukitani W, Hasegawa T, Manabe A, Itoh K, Hayakama T, Debari K, Wakumoto S, Hasamitsu H. Self-etching dentin primer containing phenil-P. J Dent Res. 1994; 73: 1088-1095.

De Carvalho RC, de Freitas PM, Otsuki M, de Eduardo CP, Tagami J. Micro-shear bond strength of Er:YAG-laser-treated dentin. Lasers Med Sci. 2008; 23: 117-24.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Microtensile bond strength of two adhesives to Er:YAG-lased vs bur-cut enamel and dentin. Eur J Oral Sci. 2002; 110: 322-9.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans 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: 118-132.

De Souza AE, Corona SA, Dibb RG, Borsatto MC, Pecora JD. Influence of Er:YAG laser on tensile bond strength of a self-etching system and a flowable resin in different dentin depths. J Dent. 2004; 32(4): 269-75.

Dunn WJ, Davis JT, Bush AC. Shear bond strength and SEM evaluation of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin and enamel. Dent Mater. 2005; 21(7): 616-24.

Eduardo, CP; Myaki, SI; Oliveira WT; Arana chavez, VE; Tanji, EY. Morphological evaluation of enamel surfaces and the shear bond strenght of a composite resin after Er:YAG laser irradiation. An "in vitro" study. 5th congress of the internacional Society for Lasers in Dentistry. 1996; 41-4.

Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. Crit Rev Oral Biol Med. 1997; 8: 306-335.

Eliades GC, Caputo AA, Vougiouklakis GJ. Composition, wetting properties and bond strength with dentin of 6 new dentin adhesives. Dent Mater. 1985; 1:170-176.

Erickson RL. Surface interactions of dental adhesive materials. Oper Dent. 1992; 17: 81-94.

Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Apel C, Turbino ML, Aranha AC, Eduardo C de P, *et al.* Bond strength of self-etching primer to bur cut, Er,Cr:YSGG, and Er:YAG lased dental surfaces. Photomed Laser Surg. 2007; 25: 373-80.

Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. J Dent Res. 1979; 58(4): 1364-70.

Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. J Dent Res. 2006; 85(10): 941-4. Gabriel AES, Serra MC, Dibb RPG, Pécora JD, Corona SAM. Laser Er:YAG na Odontologia Restauradora: impactos e direções futuras. Rev Gauch Odontol. 2006. 54: 351-355.

Giachetti L, Scaminaci Russo D, Scarpelli F, Vitale M. SEM analysis of dentin treated with the Er:YAG laser: a pilot study of the consequences resulting from laser use on adhesion mechanisms. J Clin Laser Med Surg. 2004; 22(1): 35-41.

Giannini M, Seixas CAM, Reis AF, Pimenta LAF. Six-month storage-time evaluation of one-bottle adhesive systems to dentin. J Esthtet Restor Dent. 2003; 15: 38-43.

Gimbel CB. Hard tissue laser procedures. Dental Clin North Am. 2000; 44: 931-53.

Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. Nature. 1964; 203: 417.

Gwinnett AJ, Kanca J. Micromorphology of the bonded dentin interface and its relationship to bond strength. Am J Dent. 1992; 5: 73-77.

Gwinnett AJ, Kanca J, 3rd. Micromorphological relationship between resin and dentin in vivo and in vitro. Am J Dent.1992; 5(1): 19-23.

Gwinnett, AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. Am J Dent. 1993; 6: 7-9.

Hanks CT, Wataha JC, Parsell RR, Strawn SE, Fat JC. Permeability of biological and synthetic molecules through dentin. J Oral Rehabil. 1994; 21: 475-487.

Hansen S, Swift EJ, Krell KV. Permeability effects of two adhesive dentin system. J Esthet Dent. 1992; 4: 169-171.

Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resindentin bonds in humans over 1 to 3 years. J Dent Res. 2000; 79: 1385-1391.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, Araki Y, Kubota M. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. J Dent. 2002b; 30: 99-105.

Hibst R, Keller U, Stainer R. The effect of pulsed Er:YAG laser radiation on dental hard tissues. Lasers Surg Med. 1988; 4(3): 163-65.

Hibst R, Keller U. Experimental studies of application of Er:YAG laser on dental hard substances. Lasers Surg Med. 1989; 9: 338-44.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Nakamura G, Matsumoto KL. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. J Clin Laser Med Surg. 1999; 17: 105-9.

Hugo B, Stassinakis A. Preparation and restoration of small interproximal carious lesions with sonic instruments. Pract Periodont Aesthet Dent. 1998; 10(3): 353-59.

Kameyama A, Kawada E, Amagai T, Takizawa M, Oda Y, Hirai Y. Effect of HEMA on bonding of Er:YAG laser-irradiated bovine dentine and 4-META/MMA-TBB resin. J Oral Rehabil 2002; 29: 749-55.

Kanca J. Resin bonding to wet substract .I. Bonding to dentin. Quintessence Inter. 1992; 23: 39-41.

Kataumi M, Nakajima M, Yamada T, Tagami J. Tensile Bond strength and SEM evaluation of Er:YAG laser irradiated dentin using dentin adhesive. Dent Mater J. 1998; 17(2): 125-38.

Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopy and SEM investigations. Lasers Surg Med. 1989; 9: 345-51.

Kina JF, Benitez PC, Lizarelli RFC, Bagnato VS, Martinez TC, Oliveira CF, Hebling J, Costa CAS. Comparative Histopatological analysis of human pulps after class I cavity preparation with a high-speed air-turbine handpiece or Er:YAG Laser.Laser Phys. 2008; 18: 1-8

Kramer IRH, Mclean JW. Alterations in the staining of dentine resulting from a constituent of a new self-polymerizing resin. Br Dent J. 1952; 92: 150-3.

Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG laser. Lasers Surg Med. 2002; 30: 246-52.

Lee BS, Lin PY, Chen MH, Hsieh TT, Lin CP, Lai JY, *et al.* Tensile bond strength of Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin and analysis of dentin-resin interface. Dent Mater 2007; 23: 570-8.

Li zz, Code JE, Van de Merwe WP. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. Lasers Surg Med. 1992; 12(6): 625-30.

Lin S, Caputo AA, Eversole LR, Rizoiu I. Topographical characteristics and shear bond strength of tooth surfaces cut with a laser-powered hydrokinetic system. J Prosthet Dent 1999; 82(4): 451-5.

Lobene RR, Fine S. Interaction of laser radiation with oralhard tissues.J Prosthet Dent. 1966; 16: 589-97.

Los SA, Barkmeier WW. Effects of dentin air abrasion with aluminum oxide and hydroxyapatite on adhesive bond strength. Oper Dent. 1994; 19(5): 169-75.

Lupi-Pegurier L, Bertrand MF, Muller-Bolla M, Rocca JP, Bolla M. Comparative study of microleakage of a pit and fissure sealant placed after preparation by Er:YAG laser in permanent molars. J Dent Child (Chic). 2003; 70(2): 134-8.

Maciel KT, Carvalho RM, Ringle RD, Preston CD, Russel CM, Pashley DH. The effects of acetone, ethanol, Hema, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. J Dent Res. 1996; 75: 1851-1858.

Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. Nature. 1960; 187: 493-4.

Manhart J, Huth KC, Chen HY, Hickel R. Influence of the pretreatment of occlusal pits and fissures on the retention of a fissure sealant. Am J Dent. 2004; 17(1): 12-8.

Marshall GW Jr. Dentin: microstructure and characterization. Quintessence Int. 1993; 24(9): 606-617.

Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substract structure and properties related to bonding. J Dent. 1997; 25: 441-458.

Martinez-Insua A, Da Silva Dominguez L, Rivera FG, Santana-Penin UA. Differences in bonding to acid-etched or Er:YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. J Prosthet Dent. 2000; 84(3): 280-8.

Matsumoto, K., Nakamura, Y., Makezi, K., Kimura Y. Clinical dental application of Er:YAG laser on class V cavity preparation. J. Clin. Laser Med. Surg. 1996; 14(3): 120-130.

Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Kuboki T, Yoshida Y, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding effectiveness of two contemporary self-etch adhesives to enamel and dentin. J Dent. 2009; 37(11): 872-83.

Miyazaki M, Nakabayashi N. Combination of EDTA conditioner and phenyl-P/HEMA self-etching primer for bonding to dentin. Dent Mater. 1999; 15: 153-157

Moretto SG, Azambuja N Jr, Victor E, Arana-Chavez, Reis AF, Giannini M, Eduardo CP, Freitas PM. Effects of Ultramorphological Changes on Adhesion to

Lased Dentin-Scanning Electron Microscopy and Transmission Electron Microscopy Analysis. Microsc. Res. Tech. 2010; in press (2011). Disponível em http://onlinelibrary.wiley.com/athens.

Moritz A, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Wernisch J, Sperr W. Alternatives in enamel conditioning: a comparison of conventional and innovative methods. J Clin Laser Med Surg 1996; 14(3): 133-6.

Moritz A., Schoop U., Goharkhay k., Szakacs S., Sperr W., Schweidler E., *et al.* Procedures for enamel and dentin conditioning: a comparison of conventional and innovative methods. J. Esthet. Dent 1998; 10 (2): 80-93.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. J Biomed Mater Res. 1982; 16(3): 265-73.

Nakabayashi N, Pashley D. Hibridization of dental hard tissues. Quintessence. 1998; 24: 37-56.

Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs microtensile bond strength. Oper Dent. 2002; 27: 289-96.

Oliveira MT, Di Francescantonio, Consani S, Giannini M. Influence of dentin *smear layer* created by chemo-mechanical or bur excavation methods on adhesion of self-etching primers and a conventional adhesive. J Adhesion. 2007a; 83: 821-35.

Oliveira MT, Freitas PM, Ambrosano GMB, Eduardo CP, Giannini M. Influence of diamond sono-abrasion, air-abrasion and Er:YAG laser irradiation on bonding of different adhesive systems to dentin. Eur J Dent. 2007b; 1: 158-66.

Oliveira MT, Arrais CAG, Aranha AC, Eduardo CP, Miyake K, Rueggeberg FA, Giannini M. Micromorphology of Resin-Dentin Interfaces Using One-Bottle

Etch&Rinse Adhesive Systems on Laser-Treated Dentin Surfaces: A Confocal Laser Scanning Microscope Analysis. Lasers Surg Med. 2010; 42(7): 662-670.

Otsuki M, Eguro T, Maeda T, Tanaka H. Comparison of the bond strength of composite resin to Er:YAG laser irradiated human enamel pre-treated with various methods in vitro. Lasers Surg Med. 2002; 30(5): 351-9.

Padhdiwala A. Application of erbium: YAG laser on hard dental tissues: measurement of the temperature changes and depths of cut. Laser Res Med Surg Dent. 1988; 64: 192-201.

Paghdiwala, AF. Does the laser work on hard tissue? J. Am. Dent. Assoc. 1991; 122(1): 70-80.

Panighi M, G'Sell C. Effect of the tooth microstructure on the shear bond strength of a dental composite. J Biomed Mater Res. 1993; 27: 975-981.

Pashley DH, Pashley EL, Dentin permeability and restorative dentistry: a status report for the American journal of dentistry. Am J Dent. 1991; 4: 5-9.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentin permeability and dentin adhesion. J Dent. 1997; 25: 335-372.

Pashley EL, Zhang Y, Lockwood PE, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. Dent Mater. 1998; 14: 6-10.

Pashley DH, Tay FR. Single-step adhesives are semi-permeable membranes. Nanoleakage and fluid conductance evidence [abstract 3828]. J Dent Res 2002; 81: 468.

Pecora JD, Brugnera-Junior A, Cussioli AL, Zanin F, Silva R. Evaluation of dentin root canal permeability after instrumentation and Er:YAG laser application. Lasers Surg Med. 2000; 26(3): 277-81.

Perdigão J, Lambrechts P, van Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. Dent Mater. 1996; 12(4): 262-71.

Perdigão J, Geraldeli S. Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel. J Esthet Restor Dent. 2003; 15(1): 32-42.

Pereira PNR, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strength. Dent mater. 1999; 15: 46-53.

Pereira GDS, Paulillo LAMS, De Goes MF, Dias CTS. How wet should dentin be? Comparison of methods to remove excess water during moist bonding. J Adhesive Dent. 2001; 3: 257-264.

Pinheiro, ALB. Evolução histórica e uso do laser na Odontologia. In Pinheiro ALB, Brugnera A Jr, Zanin FAA. Aplicação do laser na odontologia. São Paulo: Editora Santos; 2010. V. 1 p. 13.

Ramos RP, Chimello DT, Chinelatti MA, Nonaka T, Pecora JD, Palma Dibb RG. Effect of Er:YAG laser on bond strength to dentin of a self-etching primer and two single-bottle adhesive systems. Lasers Surg Med. 2002; 31(3): 164-70.

Ramos RP, Chinelatti MA, Chimello DT, Borsatto MC, Pecora JD, Palma-Dibb RG. Bonding of self-etching and total-etch systems to Er:YAG laser-irradiated dentin. Tensile bond strength and scanning electron microscopy. Braz Dent J. 2004; 15: 19-20.

Reis AF, Bedran-Russo AK, Giannini M, Pereira PN. Interfacial ultramorphology of single- step adhesives: nanoleakage as a function of time. J Oral Rehabil. 2007; 34(3): 213-21.

Reis AF, Pereira PRN, Giannini M. Sistemas adesivos atualidades e perspectivas. Ebook-Jubileu de Ouro CIOSP 2007b; 3:98 [acesso 2007 Jan 27]. Disponível em http:/ciosp.com.br/anais/ebook.htm.

Robles FRP; Ramos A; Zezell DM; Eduardo CP. SEM and EDX evaluation of the microleakage in cavities prepared with Er:YAG laser. [abstract IADR 239]. J Den Res 2000; 79:5.

Rohanizadeh R, LeGeros RZ, Fan D, Jean A, Daculsi G. Ultrastructural properties of laser-irradiated and heat-treated dentin. J Dent Res. 1999; 78(12): 1829-35.

Saboia VPA, Silva FCFA, Nato F, Mazzoni A, Cadenaro M, Mazzotti G, Giannini M, Breschi L. Analysis of differential artificial ageing of the adhesive interface produced by a two-step etch-and-rinse adhesive. Eur J Oral Sci 2009; 117: 618-624.

Sanares AME, ITThagarun A, King NM, Tay FR, Pashley DH. Adverse surface interactions between one-bottle light-cured adhesives and chemical-cured composites. Dent Mater. 2001; 17: 542-556.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Mathews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. Oper Dent. 1995; 20: 18-25.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Tagami J, Pashley DH, Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. J Dent Res. 1999; 78: 906-911.

Souza Junior MHS. Adesivos dentinários : evolução, estágio atual e considerações clínicas para sua utilização. Maxi-Odonto Dentística. 1995; 1(1): 1-18.

Spencer P, Wang Y, Walker MP, Wieliczka DM, Swafford Jr. Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. J Dent Res. 2000; 79: 1458-1463.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser beam effect on dental hardtissues. J Dent Res. 1964; 43: 873.

Tagami J, Otsuki M, Nikaido T, Nakajima M, Shimada Y, Ikeda M, et al. Clinical evaluation of tooth sensitivity during cavity preparation with Er:YAG laser. Int Congr Ser. 2003; 1248: 223-5.

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SHY. The overwet phenomenon: a scanning electron microscopic study of surface moisture in the acid-conditioned resin dentin interface. Am J Dent. 1996; 9: 109-114.

Tay FR, Sano H, Carvalho RM, Pashley DH, Pashley EL. An ultrastructural study of influence of acidity of self-etching primers and *smear layer* thickness on bonding to intact dentin. J Adhesive Dent. 2000a; 2: 83-98.

Tay FR, Carvalho RM, Sano H, Pashley DH. Effect of *smear layer* on the bonding of a self-etching primer to dentin. J Adhesive Dent. 2000b; 2: 99-116.

Tay FR, King NM, Suh BI, Pashley DH. Effect of delayed activation of light-cured resin composites on bonding of all-in-one adhesives. J Adhesive Dent. 2001a; 3: 207-225.

Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. Depth of penetration beyond dentin *smear layers*. Dent Mater. 2001; 17: 296-308.

Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. J Dent Res. 2002a; 81: 471-6.

Toida T, Watanabe A, Nakabayashi N. Effect of *smear layer* on bonding to dentin prepared with bur. J Jpn Dent Mater. 1995; 14: 109-116.

Trajtenberg CP, Pereira PN, Powers JM. Resin bond strength and micromorphology of human teeth prepared with an Erbium:YAG laser. Am J Dent. 2004; 17(5): 331-6.

Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, *et al.* Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives. J Dent Res. 2005; 84: 183-88.

Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, *et al.* Adhesive and cements to promote preservation dentistry. Oper Dent. 2001; 6: 119-44.

Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch&rice and self etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. Oper Dent. 2003b; 28(5): 647-60.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P. *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. Oper Dent. 2003; 28(3): 215-235.

Vargas MA, Cobb DS, Armstrong SR. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. Oper Dent.1997; 22: 159-66.

Vermelho PM, Reis AF, Aguiar FHB, Giannini M. Avaliação da resistência de união à dentina e padrão de fratura de sistemas adesivos [abstract 246]. Brazilian Oral Research. 2008; 22:71.

Vermelho PM, Reis AF, Aguiar FHB, Giannini M. Análise da morfologia e da resistência de união dentina-resina formada por sistemas adesivos [abstract 156]. Brazilian Oral Research. 2009; 23:236.

Visuri SR, Gilbert JL, Wlash JT Jr, Wigdor H. A Shear test of composite bonded to dentin: Er:YAG laser versus dental handpiece preparations. In: Wigdor HA, Featherstone JD; White JM. Lasers in dentistry. San Jose: Spie; 1995. v. 2394 p. 223-227.

Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh JT Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. J Dent Res. 1996; 75(1): 599-605.

Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. J Dent Res. 1994; 73(6): 1212-20.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, *et al.* Comparative study on adhesive performance of functional monomers. J Dent Res. 2004; 83: 454-458.

Yoshiyama M, Matsuo T, Ebsiu S, Pashley DH. Regional bond strengths of self etching/self priming adhesive systems. J Dent. 1998; 26(7): 609-16.

Anexo

Anexo 1- Comitê de Ética em Pesquisa

Comitê de Ética em Pesquisa - Certificado

Página 1 de 1



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Avaliação do substrato dentinário irradiado com laser de ER:YAG: resistência de união, padrão de fratura e análise da ultramorfologia"**, protocolo nº 049/2010, dos pesquisadores Marcelo Giannini e Paulo Moreira Vermelho, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 02/06/2010.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Evaluation of dentin substrate irradiated with ER:YAG laser: microtensile bond strengths, failure pattern and analysis of the ultra structure"**, register number 049/2010, of Marcelo Giannini and Paulo Moreira Vermelho, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 06/02/2010.

Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas Secretário CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing. Prof. Dr. Jacks Jorge Junior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP

http://www.fop.unicamp.br/cep/sistema/certificado.php?Protocolo=049/2010&Id=1412&Passo=2&DataPar=2010-06-02

03/06/2010

Apêndice 1

Análise estatística da microtração

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: var

| | | | Sum | of | | | | |
|----------------|----------|-------|-----------|--------|-------------|----------|-------|--------|
| Source | | DF | F Squai | | Mean Square | | Value | Pr > F |
| Model | | 8 | 12169.252 | 250 | 1521.1 | 5656 | 23.47 | <.0001 |
| Error | | 63 | 4083.326 | 525 | 64.8 | 1470 | | |
| Corrected Tota | al | 71 | 16252.578 | 375 | | | | |
| | R-Square | Coeff | Var | Root M | 1SE | var Mear | n | |
| | 0.748758 | 21.34 | 1772 | 8.0507 | 758 | 37.71250 | 9 | |
| Source | | DF | Type I | SS | Mean Sq | uare F | Value | Pr > F |
| adesivo | | 2 | 3148.6275 | 500 | 1574.31 | .3750 | 24.29 | <.0001 |

| tratamento | 2 | 7636.335833 | 3818.167917 | 58.91 | <.0001 |
|--------------------|---|-------------|-------------|-------|--------|
| adesivo*tratamento | 4 | 1384.289167 | 346.072292 | 5.34 | 0.0009 |
| | | | | | |
| | | | | | |

DF Type III SS Mean Square F Value Pr > F

Source

| adesivo | 2 | 3148.627500 | 1574.313750 | 24.29 | <.0001 |
|--------------------|---|-------------|-------------|-------|--------|
| tratamento | 2 | 7636.335833 | 3818.167917 | 58.91 | <.0001 |
| adesivo*tratamento | 4 | 1384.289167 | 346.072292 | 5.34 | 0.0009 |

Apêndice 2

Análise estatística da mensuração da profundidade da irradiação:

Metodologia estatística

Após a análise exploratória dos dados, os mesmos foram analisados por meio de teste T de Student (α =0,05).

Parâmetros Repetições

| 250mJ/4Hz | 5.2 | 5.6 | 7.4 | 4.8 | 6.1 | 5.8 | 8.0 | 5.2 | 4.8 | 4.8 | Média 5.8(2.1) |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|
| 160mJ/10Hz | 7.2 | 6.0 | 5.0 | 5.2 | 4.8 | 4.4 | 5.9 | 7.5 | 7.3 | 7.5 | Média 6.1(1.2) |

Valores expressos em µm.