BRUNA UGLIK GARBUI

**Influência do condicionamento da dentina na resistência de união de cimento
de ionômero de vidro**

São Paulo

2012

BRUNA UGLIK GARBUI

**Influência do condicionamento da dentina na resistência de união de cimento
de ionômero de vidro**

Versão Original

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de concentração: Dentística

Orientador: Profa. Dra. Adriana Bona Matos

São Paulo

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Garbui, Bruna Uglik

Influência do condicionamento da dentina na resistência de união de cimento de ionômero de vidro : [versão original] / Bruna Uglik Garbui; orientador Adriana Bona Matos. -- São Paulo, 2012.

59p. : fig., tab.; 30 cm.

Dissertação -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Dentina. 2. Cimentos de ionômero de vidro. 3. Resistência de união (Odontologia). 4. Laser. I. Matos, Adriana Bona. II. Título.

Garbui BU. Influência do condicionamento da dentina na resistência de união de cimento de ionômero de vidro. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /2011

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

A Deus pelo dom da vida. Obrigada senhor por ter me iluminado, me acompanhado, me amparado nos momentos de aflição, por me ajudar a ter calma, paciência e sabedoria.

À minha amada mãe, Ivana, a primeira e principal incentivadora para a conclusão desta etapa de minha vida. É ela a pessoa em quem me espelho. É o exemplo de dignidade, força, determinação, bondade e amor. Obrigada por estar sempre ao meu lado, me dando suporte, conselhos, carinho, por todos os sacrifícios realizados para que eu pudesse chegar onde estou e por tornar não só essa jornada, como muitas outras, mais tranquilas e amenas.

Ao meu pai, Marco e à minha irmã, Victória fundamentais não só nesse momento, como em toda a minha vida. Essenciais para afugentar minhas dúvidas e incertezas, me dando sempre força para que eu acredite no que sou capaz. Obrigada pelo incansável apoio e principalmente pela paciência que vocês têm comigo.

À minha grande família, meu porto seguro, são vocês que me ensinam diariamente a importância do amor, da união, da honestidade e da humildade para a obtenção da felicidade. Obrigada pela compreensão e torcida! Vocês são essenciais na minha vida! Amo muito todos!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Adriana Bona Matos que além de uma orientadora modelo é uma pessoa de caráter indiscutível. Obrigada por fazer desse sonho uma realidade, por ter sido muitas vezes mais do que uma orientadora, uma amiga, sempre disposta a ajudar. Agradeço imensamente pela orientação segura e experiente, pelo incentivo, por se arriscar em apoiar uma aluna recém-formada a entrar no mestrado, espero ter atendido às suas expectativas. Aprendi e evolui muito nesses 5 anos, tendo seus ensinamentos na Dentística Operatória, Dentística Restauradora, Monitoria, Iniciação Científica e Mestrado, serei eternamente grata! Obrigada por tudo, de coração!!

Aos professores da Dentística: Ana Cecília Correa Aranha, Antonio Alberto de Cara, Carlos de Paula Eduardo, Eliza Maria Agueda Russo, Glaucio Fioranelli Vieira, Maria Aparecida A. de C. Luz, Maria Angela Pita Sobral, Márcia Martins Marques, Margareth Oda, Michel Nicolau Youssef, Miriam Lacalle Turbino, Narciso Garone Neto, Patrícia Moreira de Freitas e Rubens Corte Real de Carvalho, por terem dividido seus conhecimentos e por ajudarem na minha formação acadêmica.

Ao amigo e professor Sérgio Brossi Botta, que me ensinou muito desde a graduação sem medo de compartilhar: “Mestre não é aquele que aprende a ensinar, mas aquele que ensina a aprender” Marcelo Soriano. Obrigada pela disposição, toques, e incansáveis ajudas desde a iniciação científica! Você é um exemplo!

À Profa. Dra. Denise Maria Zezell, do Centro de Laser e Aplicações do IPEN/USP, por permitir que eu fizesse a irradiações com o laser de Er,Cr:YSGG.

À Carol, aluna de doutorado da Profa Denise pela atenção e pelas irradiações das amostras.

À Profa. Dra. Maria Cecília Barbosa da Silveira Salvadori, do Laboratório de Filmes Finos do Instituto de Física da USP, por autorizar o uso do Microscópio Eletrônico.

À equipe do laboratório de Filmes Finos do Instituto de Física da USP pela ajuda e atenção.

Ao Prof. Dr. Rafael Yague Ballester pela prontidão em ceder a máquina de ensaio universal do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP.

Ao Antônio, técnico do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP pela atenção e incansável ajuda no momento dos ensaios de microcisalhamento.

À Ângela Mayumi Shimaoka, pela atenção desprendida, pelas dicas e material cedido.

A todos os colegas de pós-graduação, por todos os momentos divididos.

Às meninas da minha turma de mestrado: Anely, Carol, Cynthia, Ju, Livia, Mayra, Tati, Thayne, Thayanne e Thayssa pelo companheirismo e ajuda em diversos momentos.

À minha amiga, companheira e irmã Cynthia Soares de Azevedo, pela eterna ajuda não só na faculdade, mas na vida. Obrigada por todos os momentos que passamos juntas, pelas risadas, alegrias, diversões, carinho, apoio e até pelos momentos de estresse, raiva, medo e tristeza, pode ter certeza que você ajudou a abrandá-lo. Te amo muito!

Às minhas novas amigas, Anely, Livia, Mayra, Tati, Thayanne e Thayssa, gatas, vocês tornaram mais alegres todos os dias que passamos juntas nesses dois anos, até mesmo os dois meses que ficamos doídas com nosso experimento! Vocês são fantásticas!!!

*À irmã que escolhi ter, **Adriana Mendes Gazola**. Fí, você ilumina meus dias, sempre com palavras e gestos de amor, pronta para me ajudar no que for preciso. Obrigada por fazer parte da minha vida!! Te amo mais que o Moíza!!*

*Aos meus queridos amigos, **Fernanda, Carla, Julia, Laura e Leandro**, obrigada por todos os momentos de descontração e pela compreensão nos momentos de estresse e ausência!*

*A minha mais do que secretária, amiga, **Daniela**, por fazer milagres com a minha agenda.*

*Ao **Gabriel**, que independente de qualquer coisa estava sempre disposto a me compreender e ajudar.*

A todos os funcionários do Departamento de Dentística da FOUSP pela atenção ao longo desses dois anos.

*À **Soninha**, técnica do nosso laboratório, grande companheira em todos os dias no laboratório, sempre disposta a ajudar.*

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista.

"A força não provém de uma capacidade física, mas de uma vontade indomável."
Gandhi

RESUMO

Garbui BU. Influência do condicionamento da dentina na resistência de união de cimento de ionômero de vidro [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Original.

Objetivos: avaliar o efeito de 3 parâmetros de condicionamento da dentina utilizando o laser de Er,Cr;YSGG (2,78 μ m) na resistência de união (RU) de cimento de ionômero de vidro convencional (CIV). **Materiais e métodos:** Foram utilizados neste estudo 68 terceiros molares humanos, divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=17/ grupo): G1 (grupo controle): nenhum tipo de condicionamento; G2: condicionamento com laser de Er,Cr;YSGG 0,5W, 25mJ, 20Hz ou G3: 1,0W, 50mJ, 20Hz e G4: 1,5W, 75mJ, 20Hz. Dois dentes em cada um dos grupos foram observados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) para identificar as características morfológicas dos diferentes condicionamentos de superfície realizados. Os outros 15 dentes/grupo, foram preparados para ensaio de RU, obtendo uma superfície plana de dentina onde foram construídos 3 (n=45/grupo) corpos de prova em forma de cilindro (1mm de diâmetro X 0,5mm de altura) utilizando o ionômero de vidro Ketac Molar Easymix- 3M ESPE. Após o armazenamento em água destilada por 24h a 37°C os espécimes foram ensaiados pelo teste de microcisalhamento. Os valores finais de resistência adesiva foram calculados e expressos em Mega Pascal (MPa). Os dados foram coletados e analisados por ANOVA ($p < 0,001$). **Resultados:** Os espécimes do G2 apresentaram os maiores resultados de RU (10,50MPa $\pm$ 0,84), seguido pelo G1 (4,77MPa $\pm$ 0,59), G3 (3,32MPa $\pm$ 0,39) e G4 (2,94MPa $\pm$ 0,50) que não apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto comparados entre si. A análise em MEV do G1 mostrou camada de *smear* ao longo de toda a superfície de dentina, enquanto nos outros grupos observou-se túbulos dentinários abertos, característicos na irradiação com laser de Er,Cr:YSGG. Os pulsos do laser no G2 eram facilmente distinguidos, o que não acontecia nos grupos G3 e G4, sugerindo que parâmetros de energia maiores podem causar efeitos mais extensos à estrutura da dentina. Na análise do padrão de fratura, todos os grupos apresentaram maior porcentagem de fratura

adesiva G1:73,3%, G2:48,9% G3:66,7% e G4:64,4%. O tipo de fratura mista foi proporcional ao aumento da RU (G1:24,4%, G2:46,7%, G3:20,0% e G4:17,8%).

Conclusão: O condicionamento da dentina com o laser de Er,Cr:YSGG na potência de 0,5W aumentou significativamente a RU do CIV à dentina, enquanto os demais parâmetros testados reduziram a RU.

Palavras-chave: Er,Cr:YSGG laser. Cimento de ionômero de vidro. Condicionamento da dentina. Resistência adesiva.

ABSTRACT

Garbui BU. Er,Cr:YSGG Laser Dentin Conditioning Influence on Glass Ionomer Cement Bond Strength [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Original.

Objective: To evaluate the effect of 3 dentin conditioning parameters of Er,Cr:YSGG laser (2,78 μm) on the bond strength (BS) of conventional glass ionomer cement (CGIC). **Methods:** A total of 68 third molars were divided into four groups and was subjected to one of the following pretreatments: G1- the control group, no pretreatment was realized; G2, G3 and G4 were pretreated with Er,Cr:YSGG laser irradiation at 0.5 W, 25 mJ, 9 J/cm^2 , and 20 Hz (G2); 1.0 W, 50 mJ, 18 J/cm^2 , and 20 Hz (G3); and at 1.5 W, 75 mJ, 27 J/cm^2 , and 20 Hz (G4). A scanning electron microscopy (SEM) evaluation (n=2) of pretreated dentine and a microshear bond strength test (n=15) were performed after 24h of water immersion. To build the specimens (each of which was 1 mm in diameter) for the microshear test, CGIC (Ketac Molar Easy Mix) was used. The data were analysed by one-way ANOVA ($p < 0.001$). **Results:** The G2 specimens presented the highest BS results (10.50 $\text{MPa} \pm 0.84$), and G1 had the next highest average BS values (4.77 $\text{MPa} \pm 0.59$). G3 (3.32 $\text{MPa} \pm 0.39$) and G4 (2.94 $\text{MPa} \pm 0.50$) demonstrated the lowest BS values, although the BS difference between these groups was not statistically significant ($p > 0.001$). The SEM analysis of G1 revealed that the smear layer covered the entire dentine surface, whereas in groups G2, G3, and G4, irregular dentine was detected that possessed the open dentinal tubules and protruded peritubular dentine that are the characteristic results of laser irradiation. Laser pulses could easily be distinguished in G2 but not in G3 and G4, suggesting that higher energy parameters can broadly disrupt dentine structure and thereby affect the bonding of dentine to GIC. **Conclusion:** Dentine pretreatment with an Er,Cr:YSGG laser at a power of 0.5 W increased the BS of conventional GIC.

Keywords: Bond Strength. Dentin. Er,Cr:YSGG laser. Glass Ionomer Cement. Conditioner.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ART	Atraumatic Restorative Treatment – Tratamento Restaurador Atraumático
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIV	Cimento de Ionômero de Vidro
cm ²	centímetros quadrado
SiC	carbeto de silício
Er,Cr:YSGG	Érbio-Cromo:Ítrio-Escândio-Gálio-Granada
Er:YAG	Érbio: Ítrio-Alumínio-Granada
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
h	hora(s)
Hz	hertz
HMDS	Hexadimetilsilazano
J/cm ²	joule(s) por centímetro quadrado
Laser	Acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Irradiação)
Maser	Microwave Amplificated by Stimulated Emission of Radiation – Amplificação de Microondas por Emissão Estimulada de Radiação
MPa	megapascal
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
µm	micrometro(s)
µs	microsegundo(s)
mA	miliampere(s)
min	minuto(s)
mJ	milijoule(s)
mL	mililitro(s)
mL/s	mililitro(s) por segundo
mm	milímetro(s)
mm/min	milímetro(s) por minuto
mm ²	milímetros quadrado
mW/cm ²	miliwatt(s) por centímetro quadrado

n	número
N	newton(s)
PVC	Policloreto de Vinilo
pH	potencial hidrogeniônico
rpm	rotação por minuto
RU	resistência de união
s	segundo(s)
W	watt(s)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	grau(s) Celsius
±	mais ou menos
%	porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Laser de alta intensidade na odontologia.....	18
2.2 Cimento de Ionômero de Vidro.....	21
3 PROPOSIÇÃO	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Obtenção da amostra.....	25
4.2 Delineamento Experimental	26
4.3 Preparo da amostra.....	26
4.4 Parâmetros do laser de Er,Cr:YSGG.....	29
4.5 Análise por Microscopia Eletrônica da superfície de dentina	30
4.6 Ensaio de Resistência de União por Microcissalhamento	31
4.7 Análise do Padrão de Fratura.....	34
4.8 Formas de Análise dos Resultados.....	35
5 RESULTADOS.....	36
5.1 Avaliação morfológica da superfície dentinária.....	36
5.2 Resistência de união pelo teste de microcissalhamento.....	42
5.3 Avaliação do padrão de fratura.....	43
6 DISCUSSÃO	48
7 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS.....	53
ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

A dentística minimamente invasiva preconiza a preservação de tecido dental sadio, indicando a remoção consciente de tecido cariado. Para tanto, têm surgido métodos de remoção alternativos (Neves et al., 2011), tais como, microabrasão a ar, abrasão sônica e irradiação laser.

A interação entre o laser e o tecido depende das características da radiação incidente, das propriedades ópticas e composição do tecido irradiado (Gutknecht; Esteves-Oliveira, 2007; Olivi et al., 2010; Rabelo et al., 2010). Os lasers de érbio (YAG ítrio-alumínio-granada e YSGG – ítrio-escândio-gálio-granada) possuem comprimento de onda que coincide com a banda de absorção da água e da hidroxiapatita, portanto, parâmetros específicos podem remover tecido duro dental realizando preparos cavitários, bem como remover seletivamente tecido cariado, promover redução microbiana e condicionamento da superfície dental (Eduardo, 2007). A este respeito, dentre os métodos de remoção de tecido cariado, apenas os lasers possuem capacidade de redução bacteriana (Franzen et al., 2009), altamente desejável quando da realização de tratamento restaurador atraumático (ART).

Quando analisada a ação dos lasers de érbio na dentina, a literatura mostra uma superfície dentinária irregular, com ausência da camada de esfregaço, túbulos dentinários abertos e dentina peritubular proeminente (Aranha et al., 2007; Esteves-Oliveira et al., 2007; Malkoc et al., 2011), gerando uma superfície supostamente favorável ao procedimento de adesão. No entanto, a literatura (Esteves-Oliveira et al., 2007; Botta et al., 2009; Goldman, 2009; Ferreira et al., 2010; Moretto et al., 2010) mostra que, de acordo com a densidade de energia adotada, a irradiação laser gera um efeito termomecânico que pode ocasionar a desnaturação da rede de fibrilas colágenas superficiais, formar uma superfície ácido-resistente e até carbonizada ou derretida-*melting* (Moretto et al., 2010), o que prejudica a infiltração do sistema adesivo e consequentemente a formação da camada híbrida e a resistência de união (Koshiro et al., 2005; Ferreira et al., 2010).

Ainda no contexto da dentística minimamente invasiva tem crescido a procura por materiais restauradores que promovam bom selamento marginal, propiciando a

reparação do tecido afetado. O cimento de ionômero de vidro (CIV) é um material que libera íons flúor (Geiger; Weiner, 1993; Attar; Onem, 2002), com um grande potencial de remineralização, atuando como agente redutor na progressão de lesões de cárie.

Além de liberar e reincorporar íons flúor na estrutura dental, o CIV possui adesão química tanto ao esmalte quanto à dentina (Sennou et al., 1999), ação antimicrobiana (Geiger; Weiner, 1993), ausência de estresse de contração durante o período de presa (Mount, 2002), coeficiente de expansão térmico linear semelhante ao dente (Mount, 2002), baixa condutibilidade térmica (Mount, 2002), é biocompatível a estrutura dental (Mount, 2002), técnica de inserção menos sensível do que os materiais resinosos (Glasspoole et al., 2002) e tem um custo menor quando comparado aos adesivos dentinários e às resinas compostas.

Por outro lado, os CIVs convencionais possuem algumas limitações clínicas tais como tempo de presa longo, baixa resistência ao desgaste e a substâncias ácidas, susceptibilidade à fratura e à desidratação, além de textura rugosa (Pereira et al., 2002; Sholtanus; Huysmans, 2007).

Devido a essas características, o CIV é indicado em cavidades onde não há interferência direta de forças oclusais, por exemplo, cavidades Classe V; dentes decíduos; ART; pacientes hospitalizados, onde os recursos para remoção do tecido cariado e para a realização das restaurações são limitados; restaurações profundas; e como material protetor (Matis et al., 1996; Scholtanus; Huysmans, 2007).

Estudos que avaliam a resistência de união (RU) dos CIVs, por ensaio de microtração, ao esmalte e à dentina (Banomyong et al., 2007; Ekworapoj et al., 2007b; van Meerbeek et al., 2006; Navimipour et al., 2012; Pereira et al., 2002), detectam baixos valores de RU, além de predomínio de fraturas coesivas, quando comparado à ocorrência de fraturas mistas e adesivas, o que compromete a confiabilidade dos resultados obtidos. Segundo Bonifácio (2008) o teste de microcisalhamento é um método mais eficiente para avaliar a RU dos CIVs à superfície dental, apresentando maior quantidade de fraturas mista e/ou adesiva.

Com o objetivo de aumentar a união entre o substrato dental e os CIVs, autores (Ekworapoj et al., 2007b; Glasspoole et al., 2002; Korkmaz et al., 2010) têm proposto o condicionamento ácido do substrato previamente à inserção do CIV na cavidade. A justificativa para tal procedimento reside no fato do ácido remover ou reduzir a camada de esfregaço e ampliar a área de superfície do tecido o que supostamente favorece a

adesão do material ao dente. Todavia, os achados na literatura são controversos (Glasspoole et al., 2002; Ekworapoj et al., 2007b; Korkmaz et al., 2010).

Neste contexto o laser de érbio tem sido proposto não só quando o material restaurador utilizado é o CIV (Ekworapoj et al., 2007b; Jordehi et al., 2007; Kimyai et al., 2010; Korkmaz et al., 2010) mas também quando a resina composta é escolhida (Botta et al., 2009; Barasan et al., 2011). Todavia, os trabalhos encontrados na literatura que utilizam lasers de Er,Cr:YSGG são poucos (Matsumoto et al., 2002; Aranha et al., 2007; Ekworapoj et al., 2007b; Jordehi et al., 2007; Botta et al., 2009; Obeidi et al., 2010; Basaran et al., 2011; Kato et al., 2011; Geraldo- Martins et al., 2012) e a maioria testa parâmetros de preparo cavitário e não de condicionamento da superfície. Além disso, quando o objetivo é promover o condicionamento da superfície dental os achados variam na literatura (Ekworapoj et al., 2007b; Jordehi et al., 2007; Botta et al., 2009; Barasan et al., 2011), bem como, os protocolos utilizados.

Devido à habilidade única do laser de condicionar dentina e, ao mesmo tempo, reduzir contagem bacteriana (Franzen et al., 2009), acreditamos que esta seja uma tecnologia altamente indicada para procedimentos de preparo de boca, bem como de ART, associados ao uso do cimento de ionômero de vidro. Assim, o estabelecimento de parâmetros de irradiação adequados para esta aplicação clínica é mandatório.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Laser de alta intensidade na odontologia

O conceito físico que permitiu o desenvolvimento do laser surgiu em 1917 com os estudos de Einstein sobre a absorção e a emissão espontânea de fótons na interação da luz com a matéria. Todavia, esses conceitos só foram utilizados em 1958 por Schawlow e Townes, quando criaram o *Maser (Microwave Amplificated by Stimulated Emission of Radiation* – amplificação de microondas por emissão estimulada de radiação), o primeiro dispositivo a amplificar e obter fótons de mesmo comprimento de onda (Schawlow; Townes, 1958).

Em julho de 1960a, Theodore Harold Maiman relatou no *Physical Review Letters*, um “resultado inesperado de um feixe de luz” emergente do cristal de rubi estimulado por uma onda de determinado comprimento de onda, sendo que antes, a obtenção de uma radiação monocromática só era possível com um meio ativo de vapor alcalino. Tal achado, descrito com maiores detalhes técnicos posteriormente no mesmo ano na revista *Nature*, tornou-se o marco inicial do Laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* – amplificação da luz pela emissão estimulada de radiação), definido como um feixe colimado visível de uma pequena fração da radiação eletromagnética amplificada, compreendida entre a faixa ultravioleta ao infravermelho (Maiman, 1960a; b).

A primeira referência ao uso do laser em odontologia foi feita por Goldman et al., em 1964, ao descrever o impacto do laser de rubi no tecido cariado. Os efeitos do laser na dentina foram então descritos a partir da década de 1970, inicialmente com o laser CO₂ (Kantola, 1972), tendo aumentado consideravelmente o número de pesquisas nos anos de 1990 com o laser Nd:YAG (neodímio, ítrio, alumínio e granada) (Cox et al., 1994; Schaller et al., 1997; Gow et al., 1999), e no final dos anos 1990 e começo do século XXI, com os lasers Er:YAG e Er,Cr:YSGG (Hossain et al., 1999; Hossain, 2001; Harashima et al., 2005; Ekworapoj et al., 2007a; Adu-Arko et al., 2010; Botta et al., 2011). Clinicamente, o laser Er,Cr:YSGG tem sido bem aceito pelos pacientes para a remoção de cárie e preparo cavitário, com desconforto e sensibilidade similares ao método convencional (Matsumoto et al., 2002).

A interação entre o laser e o tecido depende das características da densidade de energia, do ângulo de incidência, da proporção ar/água para o resfriamento, das propriedades ópticas, da composição mineral do tecido a ser irradiado, entre outros fatores (Gutknecht; Esteves-Oliveira, 2007; Olivi et al., 2010; Rabelo et al., 2010). A ablação dos tecidos mineralizados com o laser é baseada em um processo de interação termo-mecânica, no qual ocorre absorção da radiação pela água contida na hidroxiapatita e a evaporação instantânea dessa mesma água, quando então os fragmentos são removidos da estrutura dentária por explosão do vapor de água (Meister et al., 2006). Quando o esmalte é submetido a densidades de energia entre 7,5 a 13,5 J/cm², a temperatura pode alcançar até 600°C, com diminuição do conteúdo de carbonatos, da absorção de água e de radicais hidroxilas estruturais, o mesmo deve acontecer com a dentina, tornando os tecidos irradiados mais resistentes à desmineralização e, portanto, ao surgimento da lesão de cárie (Rabelo et al., 2010).

O laser Er,Cr:YSGG possui um comprimento de onda de 2,78 µm, que resulta em diferentes constantes de absorção da água e da hidroxiapatita. Ao contrário do laser de Er:YAG, seu precursor com comprimento de onda de 2,94 µm e absorção pela água três vezes maior, o laser Er,Cr:YSGG promove menor ablação do tecido e depende da água da irrigação externa para haver ablação do esmalte e da dentina. Isto é explicado pelo menor comprimento de onda do laser de Er,Cr:YSGG que aumenta seu poder de penetração e sua absorção pela hidroxiapatita, diminuindo assim a densidade espacial de energia e concentrando o calor por mais tempo na parte mineral (Hossain et al., 1999; Meister et al., 2006; Lin et al., 2010). O menor decaimento da temperatura torna a porção irradiada menos susceptível à ablação, devido à concentração do calor (Perhavec; Diaci, 2009).

Apesar das diferenças físicas entre os lasers de érbio, quando comparada, a superfície dentinária irradiada é similar em ambos. Todavia, a dentina irradiada com o laser Er,Cr:YSGG apresenta-se com túbulos dentinários um pouco mais visíveis, sulcos mais profundos e irregularidades mais evidentes (Ekworapoj et al., 2007a; Hossain et al., 2001; Moretto et al., 2010; Malkoc et al., 2011; Zhan et al., 2009). À medida que a densidade de energia se torna superior a 50 J/cm², a superfície da dentina torna-se mais irregular, chegando a ficar totalmente vitrificada (Ekworapoj et al., 2007a; Zhan et al., 2009; Malkoc et al., 2011).

Devido à exposição dos túbulos dentinários, maior ablação da dentina intertubular do que da dentina peritubular que resulta na protrusão dos túbulos

dentinários, sugeriu-se que o laser com parâmetro adequado produziria uma superfície dentinária mais favorável para os sistemas adesivos, com rugosidade entre 150 a 170 μm , quando comparada ao condicionamento convencional, ácido ortofosfórico, com rugosidade entre 73 a 94 μm (Hossain et al., 2001). Porém, os parâmetros do laser tanto no condicionamento da dentina quanto no preparo cavitário ainda não foram padronizados, o que gera resultados controversos (Esteves-Oliveira et al., 2007; Ekworapoj et al., 2007a; Botta et al., 2009; Zhan et al., 2009; Moretto et al., 2010; Malkoc et al., 2011).

Quando se utilizam materiais resinosos, a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG tanto para condicionamento da dentina como preparo cavitário, pode não só não alterar a RU como ainda reduzir a mesma quando comparada à dentina preparada com broca (Esteves-Oliveira et al., 2007; Botta et al., 2009; Goldman, 2009). A fim de solucionar esse obstáculo, propõe-se que, após a irradiação, a dentina seja condicionada com ácido ortofosfórico a 40% por 30s seguida pela aplicação de gel de NaClO a 10% por 90s para que haja a remoção da camada superficial de colágeno desnaturado promovida pela ação do laser (Kato et al., 2011).

Além da irradiação com o laser promover desnaturação das fibrilas colágenas (Esteves-Oliveira et al., 2007; Botta et al., 2009; Goldman, 2009), a maior exposição dos túbulos dentinários e também do fluxo do fluido dentinário para o exterior aumentam a umidade superficial da dentina, o que reduz a RU dos sistemas adesivos e torna a interface material restaurador/dentina mais susceptível a microinfiltrações (Banomyong et al., 2007; Goldman, 2009; Geraldo-Martins et al., 2012; Kimyai et al., 2010).

Para materiais como o CIV que possuem mecanismo de adesão que não envolve a formação de uma camada híbrida, a maior exposição dos túbulos dentinários pode ser um fator menos relevante (Banomyong et al., 2007). Por outro lado, a alteração do conteúdo mineral da superfície dentinária e da conformação proteica do colágeno pela aplicação do laser Er,Cr:YSGG podem ter algum impacto na RU, pois é conhecido que após a irradiação da dentina com potência de 1,0 W *versus* 2,7 J/cm² quadruplica o conteúdo de cálcio e magnésio, dobra o conteúdo de fósforo, e aumenta o conteúdo de sódio, ao contrário das configurações 2,0 W *versus* 5,6 J/cm² e 3,0 W *versus* 8,2 J/cm² que não alteram o conteúdo mineral (Secilmis et al., 2008).

Estudos que utilizam o CIV como material restaurador e que avaliam a ação do laser de Er,Cr:YSGG na RU ao substrato dental (Ekworapoj et al., 2007b; Jordehi et al.,

2007) mostram resultados contraditórios. Enquanto no estudo de Ekworapoj et al., em 2007, a irradiação com laser de ErCr:YSGG aumentou a RU do CIV convencional à dentina, no de Jordehi et al. (2007) reduziu a mesma. Devido a isso novos estudos utilizando esse material bem como a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG devem ser realizados.

2.2 Cimento de Ionômero de Vidro

O cimento de ionômero de vidro foi desenvolvido por Allan D. Wilson e B. E. Kent em 1972 como uma evolução dos cimentos de silicato e policarboxilato de zinco, associando as características positivas dos dois materiais (Wilson; Kent, 1972). O pó é composto predominantemente por um material vítreo, resultante da fusão de dióxido de silício (SiO_2), trióxido de alumínio (Al_2O_3), fosfato de cálcio (CaF_2), fluoreto de sódio e alumínio (Na_3AlF_6), trifluoreto de alumínio (AlF_3) e fosfato de alumínio (AlPO_4), enquanto o líquido é uma solução aquosa de ácido poliacrílico, maleico, itacônico entre outros monômeros (Mount, 2002).

Quando pó e líquido são misturados, ocorre o início da reação de presa do tipo ácido-base: o ácido existente no líquido corrói a superfície do vidro liberando íons metálicos, especialmente cálcio e alumínio que reagem com o hidrogênio dos grupos carboxilas desse ácido, resultando na cristalização do CIV devido à formação de ligações cruzadas entre os cátions (Barry et al., 1979; Kawahara et al., 1979).

A reação de presa inicial deste material ocorre durante as primeiras 24 horas após a sua manipulação e é neste período que o material é mais suscetível à sinérese e à embebição, perda e ganho de água, respectivamente, devido à solubilidade das cadeias de poliacrilato de cálcio, podendo ocorrer alteração de suas propriedades como, por exemplo, redução da resistência mecânica (Mount, 2002). Por este motivo, no atual processo de fabricação do cimento, o excesso de cálcio é removido da superfície das partículas de vidro através de um banho ácido, disponibilizando mais alumínio para uma presa final mais rápida, porém com perda da translucidez (Mount, 2002).

Assim, com o passar dos anos, a fim de atender às demandas dos atuais procedimentos odontológicos, os CIVs começaram a variar substancialmente de

composição, proporção pó e líquido e, conseqüentemente, tempo de presa, resistência à compressão, solubilidade, e outras propriedades (Oilo, 1988; Mount, 2002). A incorporação de resina ao CIV facilitou a manipulação clínica do material, além de melhorar as propriedades físicas e modificar a forma de adesão à estrutura dentária (Mount, 2002).

Quando o CIV convencional é aplicado diretamente sobre a dentina, forma-se uma camada intermediária de rápida difusão iônica: alumínio, silício, flúor e estrôncio do CIV para a dentina e cálcio e fósforo da mesma para o CIV, sem haver embricamento mecânico com o colágeno; esta interação química continua durante um longo período, porém de forma mais lenta (Sennou et al., 1999). Na camada intermediária, há precipitação de cristais de carbonato fluorapatita que é menos solúvel do que o carbonato hidroxiapatita presente na dentina, formando uma barreira efetiva contra cáries secundárias (Geiger; Weiner, 1993).

Devido a esta adesão química, ou seja, a não necessidade de condicionamento do substrato dentário e aplicação de um sistema adesivo, os CIVs se tornaram um biomaterial importante no ART, sem mencionar a contínua liberação de flúor (Attar; Onem, 2002).

Além da camada intermediária de difusão iônica, também ocorrem ligações fracas em mais da metade dos grupos carboxilas dos ácidos aos íons de cálcio da hidroxiapatita (Nezu; Winnik, 2000; Yoshida et al., 2000), tornando a adesão ao esmalte superior à da dentina pelo maior conteúdo de hidroxiapatita do primeiro. No entanto, comparado aos materiais resinosos, sua RU deixa a desejar (Bonifácio, 2008).

Com o objetivo de aumentar a RU à dentina, autores tem proposto o condicionamento ácido. Os ácidos testados para o condicionamento do substrato são o ácido fosfórico a 35-37% (Glasspoole et al., 2002; Korkmaz et al., 2010) e o ácido poliacrílico 10-25% (Glasspoole et al., 2002; Banomyong et al., 2007; Ekworapoj et al., 2007b).

Quando o ácido fosfórico foi utilizado em esmalte por Glasspoole et al. em 2002, houve o aumento da RU, já quando testado por Korkmaz et al. (2010), não gerou maior adesão do CIV tanto ao esmalte quanto à dentina.

Ao utilizar o ácido poliacrílico tanto Glasspoole et al. (2002) quanto Banomyong et al. (2007) e Ekworapoj et al. (2007b), mostraram que a RU do CIV à dentina condicionada com esse ácido não se beneficia de tal tratamento de superfície. Além

disso, o ácido poliacrílico não é mais comercializado no Brasil, impossibilitando seu uso.

Do exposto, como o CIV possui características peculiares que o tornam amplamente indicado, observa-se haver necessidade de identificar novos mecanismos que aumentem a adesão entre o cimento de ionômero de vidro e a superfície dental. Neste contexto o laser de Er,Cr:YSGG pode ser uma alternativa pois, além de ter a capacidade de condicionar o substrato dental (Botta et al., 2009; Basaran et al., 2011; Ekworapoj et al., 2007b; Jordehi et al., 2007) reduz a contagem bacteriana (Franzen et al., 2009) bem como a microinfiltração (Geraldo-Martins et al., 2012), fundamental em ART, todavia ainda não foi possível padronizar um parâmetro que aumente a RU do CIV convencional à dentina.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo in vitro foi identificar o melhor condicionamento superficial de dentina com laser de Er,Cr:YSGG que seja capaz de aumentar a RU de cimento de ionômero de vidro convencional.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção da amostra

Para a realização deste estudo foram utilizados 68 (n total) terceiros molares humanos, doados pelo Banco de Dentes da FOUSP. A coleta e o experimento tiveram início somente após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (Protocolo 120/11 CAAE 0122.0.017.000-11 – Anexo A).

Para remoção dos debris orgânicos, os dentes foram lavados com água e sabão, raspados com curetas periodontais (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e limpos por profilaxia com pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água, realizada com escova Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação (Figuras 4.1 e 4.2).

Figura 4.1- Raspagem com curetas periodontais

Figura 4.2- Profilaxia com pedra pomes e água

4.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental deste trabalho está descrito no quadro 4.1.

Fator de Variação	1. Condicionamento da Dentina	<u>4 Níveis</u>	- Sem condicionamento
			- Laser Er,Cr:YSGG: 0,5W, 25mJ, 20Hz
			- Laser Er,Cr:YSGG: 1,0W, 50mJ, 20Hz
			- Laser Er,Cr:YSGG: 1,5W, 75mJ, 20Hz
Unidade Experimental	Dentina oclusal de terceiros molares humanos.		
Variável Resposta	1)Avaliação morfológica da superfície de dentina - MEV (n=2 dentes/grupo); 2) Resistência de união por microcissalhamento (n=15 dentes/grupo); 3) Avaliação do padrão de fratura.		

Quadro 4.1- Delineamento experimental do presente estudo

4.3 Preparo da amostra

Sessenta e oito dentes foram seccionados na altura dos terços médios da coroa e da raiz dental para a obtenção de discos de dentina. Foram realizados cortes horizontais, paralelos entre si e perpendiculares ao longo eixo do dente, utilizando um disco diamantado (Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA) acoplado a uma máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA – processo FAPESP 05/04701-7), sob refrigeração à água (Figura 4.3 A e B).

Em seguida, a face oclusal dos dentes foi planificada, utilizando lixas de carbetto de silício (Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA) de granulação decrescente #180, #320 e #400, com refrigeração abundante à água em politriz (Ecomet 3 machine, Buehler Ltd., Lake Bluff, EUA) acionada em baixa velocidade (100 RPM) (Figura 4.3 C). Para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do desgaste, entre cada lixa, os espécimes foram levados a um aparelho de ultra-som, com água destilada por 5 minutos (Ferreira 2004).

Nos dentes a serem analisados em MEV de superfície (n=8dentes; n=2dentes/grupo), uma camada de esfregaço padronizada foi criada desgastando-se a

dentina com disco de lixa de granulação #600 por 60 segundos (Tao; Pashley, 1988). Nos 60 dentes restantes, submetidos ao teste de microcisalhamento (n=15dentes/grupo), primeiramente foi realizada a inclusão individual dos mesmos em tubos de PVC com 2cm de diâmetro e 1cm de altura equivalente às dimensões do dispositivo para a realização do teste de microcisalhamento.

Para a inclusão utilizou-se uma placa de vidro onde uma fita adesiva dupla face foi colada. Os tubos de PVC foram posicionados na placa de vidro e os fragmentos de dentes colocados dentro dos mesmos de maneira que a superfície plana de dentina ficasse em contato com a fita adesiva dupla face. Em seguida foi feita a inclusão dos dentes com resina acrílica auto polimerizante (JET- Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, BR) e finalmente a padronização da camada de esfregaço (Figura 4.3 D-H).

Figura 4.3- A: corte com disco diamantado no terço médio da coroa dental; B: corte com disco diamantado no terço médio da raiz dental; C: planificação da face oclusal com lixa de carbeto de silício; D: Adaptação do espécime em cima da fita dupla face e dentro do tubo de PVC; E: Inserção da resina acrílica; F: Espécime incluído em resina acrílica; G: vista oclusal do espécime incluído em resina acrílica; H: Padronização da camada de esfregação com a lixa de granulação #600

Após a padronização da camada de esfregaço os espécimes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=17/grupo) de acordo com o protocolo de condicionamento da dentina (Quadro 4.2) :

G1 (grupo controle)	Nenhum tipo de condicionamento
G2	Condicionamento com laser de Er,Cr:YSGG: potência média de 0,5W e 25mJ por pulso, densidade de energia de 9J/cm ² .
G3	Condicionamento com laser de Er,Cr:YSGG: potência média de 1,0W e 50mJ por pulso densidade de energia de 18J/cm ²
G4	Condicionamento com laser de Er,Cr:YSGG: potência média de 1,5W e 75mJ por pulso densidade de energia de 27J/cm ² .

Quadro 4.2- Divisão dos grupos experimentais

4.4 Parâmetros laser de Er,Cr:YSGG

As irradiações dos espécimes foram realizadas utilizando-se o laser Er,Cr:YSGG (Millenium, Biolase, San Clemente, EUA) do Laboratório de Biofotônica do IPEN/CNEN-SP (Projeto CEPID-FAPESP 98/14270-8). Este laser possui comprimento de onda de 2,78µm, largura do pulso entre 140 e 200µs, taxa de repetição fixa de 20Hz, com potência média ajustável entre 0 e 6W e energia por pulso de até 300mJ. Para a irradiação, foi utilizado um sistema de fibra óptica com ponta de safira (tipo S 75), de diâmetro de 750µm e comprimento de 6mm, originando um diâmetro de feixe de 600µm quando posicionado a 1mm de distância entre a ponta da safira e a superfície de dentina. Há uma luz guia vermelha, a qual indica a focalização do laser. O equipamento foi ajustado para saída de 55% de ar e 65% de água (Jordehi et al., 2007; Ansari et al., 2011). A irradiação foi realizada com o auxílio de um translador motorizado de alta precisão (ESP300, Newport Corporation, Irvine, CA, EUA), por tempo padronizado de 50s, para obtenção de uma área de irradiação constante, utilizando distância de trabalho de 1mm, com movimentos de varredura. A energia

emitida pelo laser foi verificada por um medidor de potência (Coherent Field Master GS = Deletor LM45; Coherent CA, EUA) a cada três amostras irradiadas (Figura 4.4).

Figura 4.4- Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG

O laser de Er,Cr:YSGG para condicionamento dental, foi utilizado com três valores de densidade de energia: (G2) $9\text{J}/\text{cm}^2$ - potência média $0,5\text{W}$, 25mJ por pulso; (G3) $18\text{J}/\text{cm}^2$ - potência média $1,0\text{W}$, 50mJ por pulso; e (G4) $27\text{J}/\text{cm}^2$ - potência média $1,5\text{W}$, 75mJ por pulso.

4.5 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície de dentina condicionada

Dois espécimes de cada grupo experimental tiveram sua superfície de dentina analisada por microscopia eletrônica de varredura para a avaliação das alterações morfológicas superficiais provenientes dos pré-tratamentos realizados.

Os espécimes foram imersos individualmente em solução de Glutaraldeído 2,5% por 24h. Findo este tempo, eles foram lavados com solução tampão de fosfato de sódio (PBS) por 15 minutos, sendo realizada a troca desta solução por 3 vezes, totalizando um tempo total de 1h, após o qual, os espécimes foram lavados com água destilada por 1 min. Em seguida, todos os espécimes foram desidratados em série crescente de etanol: Álcool 30% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 50% por 10min (duas

imersões de 5min); Álcool 70% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 90% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool 96% por 10min (duas imersões de 5min); Álcool Absoluto por 20min (quatro imersões de 5min). Para secagem dos espécimes foi utilizado hexadimetil disilazona (HMDS – Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 40min em capela.

Após o preparo para microscopia, cada espécime foi colado com fita dupla face em *stubs* de alumínio e coberto com fina película de ouro e então observado em microscópio eletrônico de varredura (JEOL 6460 – LV, Jeol Ltd. Tokio, Japão – FAPESP Proc.#00/08231-1) pertencente ao Laboratório de Filmes Finos do IFUSP, em aumento padronizado de 30, 500 e 2000X (Figura 4.5).

Figura 4.5- Espécimes posicionados nos *stubs* de alumínio após metalização

4.6 Ensaio de resistência de união por microcissalhamento.

Na porção central de cada superfície de dentina foram confeccionados 3 corpos de prova. Os corpos de prova foram realizados com delimitação da área adesiva (Shimaoka et al., 2007) utilizando uma fita adesiva dupla face ácido resistente de 0,05mm de espessura (Tectaoe, Manaus, AM, BR) com 3 perfurações (diâmetro de 1mm) feitas por um perfurador de lençol de borracha (modelo Ainsworth, Wilcos do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, BR).

Um micro tubo de silicone com dimensões de 1,0mm de diâmetro interno e 0,5mm de altura foi utilizado como matriz para a construção dos corpos de prova e posicionado de forma que seu diâmetro interno fosse coincidente com a perfuração da fita.

As matrizes foram adaptadas sobre as superfícies de dentina antes da inserção do cimento de ionômero de vidro (KetacTM Molar Easymix- 3M- ESPE, SP, BR) (Figura 4.6 A). A manipulação do CIV (Figura 4.6 B) foi realizada conforme as instruções do fabricante (Quadro 4.3) e a inserção do mesmo foi feita com o auxílio de uma sonda ballpoint, também conhecida como sonda CPI (Trinity® Periodontia, São Paulo, SP, BR) (Figura 4.6 C). Após a perda de brilho do material, na parte superior de cada corpo de prova foi aplicada uma camada de verniz ácido resistente (Risqué, Taboão da Serra, SP, BR) (Serra et al., 1994) (Figura 4.6 D e E).

Os corpos de prova foram então imersos em água destilada a 37°C durante 24h e após esse período, as matrizes de silicone foram removidas com o auxílio de uma lâmina de bisturi nº15 (Embramed, Jurubatuba, SP, BR) e em seguida os corpos de prova foram observados em lupa estereoscópica com um aumento de 40x para verificação da ausência de defeitos na interface adesiva.

Os espécimes foram adaptados ao dispositivo para execução do teste de microcisalhamento na máquina de ensaio universal (Instron 5942, Canton, MA, EUA). Um fio metálico de 0.2mm de diâmetro em contato com o semicírculo inferior dos cilindros laçou simultaneamente esse cilindro e o prolongamento da célula de carga sendo então realizado o ensaio de microcisalhamento com velocidade de 1mm/min. No momento da fratura, o movimento foi automática e imediatamente cessado e os dados coletados (Figura 4.6 F).

Figura 4.6- A: matriz de silicone adaptada na superfície de dentina; B: CIV utilizado: Ketac Molar Easymix – 3M-ESPE; C: Inserção do CIV na matriz; D: Proteção da superfície do CIV com verniz ácido resistente; E: Espécime após confecção dos corpos de prova; F: Ensaio da resistência de união por microcisalhamento.

Os valores de resistência de união obtidos durante o teste foram gerados em Newton (N) e transformados em MPa, dividindo-se a força atingida no momento da fratura (N) pela área da interface adesiva (mm²).

Para o cálculo da média de cada grupo foram utilizadas as médias dos cilindros de CIV de cada dente.

	Pó + Líquido
	<p>Dosagem: Agitar o frasco a fim de soltar o pó. A proporção de mistura é de 1 colher de pó para 1 gota de líquido (não deve haver bolhas nessa gota e o frasco deve estar em posição vertical).</p> <p>Espatulação: Com uma espátula de metal ou plástico fazer a mistura da pasta sobre um bloco ou uma placa de vidro. Espatular até obter-se uma consistência homogênea.</p> <p>Períodos: À temperatura ambiente de 23°C e umidade relativa do ar de 50%:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mistura: 30seg - Tempo de trabalho a partir do início da mistura: 3min - Tempo de presa a partir do início da mistura: 5min

Quadro 4.3- Instruções do fabricante para uso do CIV

4.7 Análise do padrão de fratura

Após o ensaio de microcisalhamento, para observação do padrão de fratura, todos os espécimes fraturados foram corados através da imersão no corante Ponceau S a 2%, durante 5 minutos. Os espécimes foram lavados em água corrente por 10 minutos, secos à temperatura ambiente e em seguida, posicionados em lâminas de vidro com cera utilidade de maneira em que as superfícies analisadas ficassem posicionadas paralelamente à lente do Microscópio Ótico (Miview Digital Microscope - Cosview Technologies Co., Ltd., Bantian, Longgang Dist., China) num aumento padronizado de 20x.

Foram retiradas fotos de cada espécime e então o tipo de fratura de cada corpo de prova foi classificado como: Tipo I: adesiva; Tipo II: coesiva em dentina; Tipo III: coesiva em CIV; ou Tipo IV: mista (quando dois ou mais tipos de fraturas eram observados).

Foi escolhido então um espécime com cada padrão de fratura observado para ilustração em MEV. Para isso, eles foram retirados dos tubos de PVC desgastando a parte inferior da resina acrílica de modo que não houvesse qualquer interferência na superfície de dentina corada. Os espécimes foram então imersos individualmente em solução de glutaraldeído a 2,5% durante 24h, após esse período foram realizadas 4 lavagens com solução tampão de fosfato de sódio (PBS) de 15 minutos cada. Em seguida, os espécimes foram lavados com água destilada por 1 min e desidratados com concentrações crescente de etanol: 30%; 50%; 70%, 90%, 96% em 2 banhos de 5min cada seguidas de 4 banhos de 5min em álcool absoluto (100%). Os mesmos foram então imersos em hexadimetil disilazona (HMDS – Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 40min para secagem dos espécimes.

Em seguida realizou-se a fixação dos espécimes em um *stub* de alumínio, a metalização e finalmente a observação em MEV (Jeol 6460LV- Tóquio, Japão), com voltagem de 20Kv, pertencente ao Instituto de Física da USP. Foram obtidas fotomicrografias das superfícies fraturadas com aumentos capazes de visualizar as características de cada padrão de fratura.

Ao final do experimento os fragmentos de dentes foram devolvidos ao Banco de Dentes da FOUSP para correto descarte.

4.8 Forma de análise dos resultados

Os resultados convertidos em MPa foram submetidos à análise de independência e homocedasticidade. Para a análise da resistência de união o teste utilizado foi a Análise de Variância (ANOVA) com um fator de variação. Como houve diferença significativa entre os grupos, para a identificação de quais grupos apresentam diferenças entre si foram feitas comparações múltiplas (comparações entre dois a dois grupos), utilizando o teste de Bonferroni. Neste trabalho foi utilizado 0,1% como nível de significância.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação morfológica da superfície de dentina

Nos espécimes onde a dentina foi obtida por desgaste com lixas de carbetto de silício, sem nenhum tipo de condicionamento (G1), no menor aumento (30x) a superfície de dentina se apresentou regular, coberta por camada de esfregaço que oblitera a entrada dos túbulos dentinários. Em maior aumento (500x) é possível observar a marcação da lixa e no aumento de 2000x pode-se detectar a abertura de alguns túbulos dentinários (setas verdes), sugerindo que a camada de esfregaço produzida é de fina espessura (Figura 5.1).

Por outro lado, quando foi realizado o condicionamento com o laser de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de $9\text{J}/\text{cm}^2$ (G2), a superfície de dentina apresentou clara marcação dos pulsos de laser (seta vermelha), equidistantes devido à irradiação com um translador motorizado de alta precisão e facilmente observados em um aumento de 30x. Nesse mesmo aumento é possível observar que entre os pulsos ainda existe camada de esfregaço (seta amarela). Em maior aumento (500X), na região do pulso, identificam-se regiões com túbulos dentinários abertos (seta verde), envolvidas por outras áreas onde há presença da camada de esfregaço. No aumento de 2000X, nota-se uma superfície rugosa, irregular e com aparência escamosa, sendo possível identificar com clareza a presença da dentina peritubular (seta laranja) (Figura 5.2).

Quando adotada a densidade de energia de $18\text{J}/\text{cm}^2$ (G3), a marcação dos pulsos de laser continuou nítida (seta vermelha), porém com menor distância entre os mesmos, não sendo mais observada a camada de esfregaço. Em maior aumento (500X) percebe-se também a ausência da camada de esfregaço ao longo da superfície de dentina, uma vez que quando há o aumento da densidade de energia, maior é a amplitude da área irradiada. Assim como no G2, pode-se identificar superfície rugosa e irregular, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular (seta laranja) claramente detectável (Figura 5.3).

No grupo irradiado com densidade de energia de $27\text{J}/\text{cm}^2$ (G4) não é possível distinguir os pulsos do laser, indicando mais uma vez que com o aumento da energia, a

amplitude da área irradiada é maior, fazendo com que os pulsos de aproximem de uma forma que não seja passível de detecção. As características morfológicas da superfície irregular de dentina irradiada são semelhantes as dos espécimes do grupo G3, com túbulos dentinários abertos e dentina peritubular (seta laranja) facilmente identificáveis (Figura 5.4).

Figura 5.1- Fotomicrografia ilustrativa em MEV da superfície de dentina sem condicionamento (G1). Figura A (30x): imagem característica da camada de esfregaço recobrindo toda a superfície dentinária; B (500x): em maior aumento as marcas deixadas pelo desgaste com lixa estão evidenciadas em toda a superfície da dentina; C (2000x): nesta imagem podem ser identificados, além dos elementos anteriormente descritos, a localização da abertura de alguns túbulos dentinários, indicando camada de pequena espessura (setas verdes)

Figura 5.2- Fotomicrografia ilustrativa em MEV da superfície de dentina condicionada com laser de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de $9\text{J}/\text{cm}^2$ - potência média 0.5W, 25mJ por pulso (G2). Figura A (30x): em toda a superfície da dentina, a seta vermelha indica o pulso da irradiação, enquanto a seta amarela indica a manutenção da camada de esfregaço entre os pulsos; B (500x) na região do pulso pode-se identificar dentina irradiada característica, com túbulos dentinários abertos (seta verde); e C (2000x): em maior aumento, a área do pulso se apresenta irregular em toda a sua extensão, com túbulos dentinários abertos. Ressalta-se que a dentina peritubular pode ser facilmente identificada em toda a superfície da dentina irradiada (seta laranja)

Figura 5.3- Fotomicrografia ilustrativa em MEV da superfície de dentina condicionada com laser de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de $18\text{J}/\text{cm}^2$ - potência média 1.0W, 50mJ por pulso (G3). Figura A (30x): pulsos do laser mais próximos uns dos outros nesta condição de irradiação, não se distingue mais a presença da camada de esfregaço entre eles (seta vermelha); B (500x): a dentina irradiada apresenta-se irregular em toda a sua extensão, com túbulos dentinários abertos; C(2000x): em maior aumento a dentina peritubular pode ser facilmente detectável em toda a superfície de dentina irradiada (setas laranjas)

Figura 5.4- Fotomicrografia ilustrativa em MEV da superfície de dentina condicionada com laser de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de $27\text{J}/\text{cm}^2$ - potência média 1.5W, 75mJ por pulso (G4). Figura A (30x): os pulsos não são claramente detectáveis como no grupo G2 e sem a camada de esfregaço entre eles; B (500x) a exemplo dos grupos anteriores, esta imagem apresenta dentina irregular, característica de irradiação, com túbulos dentinários abertos; C (2000x) em maior aumento a dentina peritubular é observada (seta laranja)

5.2 Resistência de união pelo teste de microcissalhamento

O modelo estatístico escolhido para a análise dos dados foi selecionado após a realização do diagnóstico da amostra pela análise de resíduos. A avaliação da homogeneidade foi realizada pelo teste de Levene. A distribuição dos valores foi testada, tendo sido observada independência e homocedasticidade, atendendo aos pressupostos necessários à utilização de teste estatístico paramétrico de Análise de Variância (Box et al., 2005).

A análise quantitativa dos dados foi realizada através de análise estatística paramétrica (ANOVA) adotando-se um nível de significância de 0,1%. A tabela 5.1 indica os dados da estatística descritiva apresentando valores médios, desvios padrão e valores mínimo e máximo de cada grupo experimental.

Tabela 5.1- Análise estatística quantitativa ($P < 0,001$)

Grupos Experimentais	Média (MPa)	Desvio Padrão ($\pm$ MPa)	Mínimo (MPa)	Máximo (MPa)
G1	4,79	0,82	3,76	7,03
G2	10,54	1,16	9,13	14,44
G3	3,73	0,53	3,10	4,67
G4	3,00	0,58	1,90	3,90

Pelo teste de ANOVA (Tabela 5.2) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais. Desta forma, pôde-se verificar que o grupo com maior valor de resistência de união foi o G2 ($10,54 \pm 1,16$ MPa) onde foi realizado o condicionamento com laser de Er,Cr:YSGG com 9J/cm^2 , seguido pelo G1 ($4,79 \pm 0,82$ MPa) onde não houve nenhum tipo de condicionamento. Ao comparar os grupos G3 ($3,73 \pm 0,53$ MPa) e G4 ($3,00 \pm 0,58$ MPa) não foi detectada diferença estatisticamente significativa, sendo estes os menores valores de resistência de união obtidos neste estudo (Gráfico 5.1).

Tabela 5.2- Valor de p na comparação entre grupos

Comparações entre grupos	p-valor
G1x G2	< 0,001
G1x G3	< 0,001
G1x G4	< 0,001
G2x G3	< 0,001
G2x G4	< 0,001
G3x G4	0,002

Gráfico 5.1- Média da resistência de união/grupo

5.3 Avaliação do padrão de fratura

Após a imersão no corante Ponceu S a 2% e observação em microscópio ótico em aumento padronizado de 20x foram visualizados somente os padrões de fratura: adesiva e mista indicando que o teste de ensaio de resistência adesiva utilizado neste estudo realmente avaliou a adesão do CIV à dentina.

O resultado da análise de fratura ocorrido em cada grupo experimental está representado na tabela 5.3. Foram também incluídas nesta tabela as porcentagens de fraturas ocorridas previamente ao ensaio de microcisalhamento.

Tabela 5.3- Frequência (porcentagem) do padrão de fratura das interfaces dos grupos experimentais avaliados

Os resultados mostram que a distribuição do padrão de fratura variou em cada grupo, entretanto a falha do tipo adesiva é a predominante em todos eles (G1:73,3%; G2:48,9%; G3:66,7% e G4:64,4%). Além disso, o aumento da porcentagem de fratura do tipo mista foi proporcional ao aumento da RU sugerindo que o CIV não suporta esforços muito maiores a 10MPa.

A maior frequência de espécimes fraturados previamente ao teste foi observada nos grupos G3 e G4, irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG na potência de 1,0W, densidade de energia de 50mJ/cm² e na potência de 1,5W e densidade de energia de 75mJ/cm², respectivamente. Esta análise do padrão de fratura comprova o resultado quantitativo, que indica que estes grupos apresentam os menores valores de RU.

Nas fotografias obtidas nos grupos irradiados com laser foi possível observar uma diferença importante na pigmentação da área dos pulsos. No G2, nos locais de incidência dos pulsos de irradiação, a dentina foi mais pigmentada pelo corante

Ponceau S, já nos G3 e G4 esses mesmos locais foram menos pigmentados que o restante da superfície de dentina (Figura 5.4).

Figura 5.4- Imagens da dentina após a aplicação do corante Ponceau S 2%: A: G2= 0.5W x 9mJ/cm²; B:G3= 1.0W x 18mJ/cm²; C:G4= 1.5W x 27mJ/cm²

Após a determinação do padrão de fratura, foram selecionados aleatoriamente dois espécimes que continham os tipos de fratura encontrados a fim de se ilustra-los em MEV.

Na fratura adesiva foram realizados 3 aumentos (50x, 150x e 600x), esses aumentos foram determinados conforme conseguia-se observar a superfície fraturada de forma clara. No aumento de 50x é possível detectar facilmente o local da dentina onde foi realizada a adesão do CIV (circulo tracejado vermelho). O espécime escolhido aleatoriamente para ilustrar esse tipo de fratura foi do grupo G3, por isso, nesse mesmo aumento detectam-se os pulsos da irradiação laser e nos maiores aumentos superfície irregular, com túbulos dentinários abertos (Figura 5.5).

No espécime que apresentou fratura do tipo mista, foram realizados 2 aumentos (50x e 150x) suficientes para observação dos detalhes desse padrão de fratura. Assim como na fratura adesiva, no aumento de 50x o local da adesão foi facilmente identificado (circulo tracejado vermelho). O espécime escolhido aleatoriamente foi do grupo G2, logo, observam-se os pulsos do laser equidistantes entre si num aumento de 50x (seta vermelha). Nesse mesmo aumento e no de 150x verifica-se a presença de camada de esfregaço (seta amarela) entre os pulsos e restos de CIV (seta azul) (Figura 5.6).

Figura 5.5- Fotomicrografia ilustrativa em MEV do padrão de fratura do tipo adesiva. Figura A (50x): Neste aumento é possível observar o local a adesão (círculo tracejado vermelho) bem como os pulsos da irradiação (seta vermelha); B (150x): Superfície irregular característica de irradiação com laser de Er,Cr:YSGG; C (600x): Superfície dentinária irregular com túbulos dentinários abertos característicos de irradiação por laser

Figura 5.6- Fotomicrografia ilustrativa em MEV do padrão de fratura do tipo mista. Figura A (50x): Observa-se o local da adesão do CIV (círculo tracejado vermelho), o pulso do laser (seta vermelha) e a camada de esfregaço entre os pulsos de irradiação (seta amarela); B (150x): Em maior aumento verifica-se a camada de esfregaço (seta amarela) e restos de CIV (seta azul).

6 DISCUSSÃO

O grande desafio dos estudos na área de laser é identificar um protocolo de irradiação que favoreça a RU entre substrato e material restaurador. Este trabalho demonstrou que o condicionamento com laser de Er,Cr:YSGG com potência média de 0,5 W e 25 mJ por pulso, densidade de energia de 9 J/cm^2 aumenta significativamente a RU entre CIV convencional e dentina. Até o presente momento a maior parte da literatura demonstrava que a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG, tanto para preparo cavitário quanto para condicionamento de superfície, não favorecia o procedimento adesivo diminuindo a adesão ao substrato dental (Esteves-Oliveira et al., 2007; Jordehi et al., 2007; Botta et al., 2009; Moretto et al., 2010; Malkoc et al., 2011).

A superioridade da RU do condicionamento com laser a 0,5 W e 9 J/cm^2 sugere a preservação e, provavelmente, aumento da capacidade de troca iônica entre a dentina e o CIV, pois já foi observado que a aplicação do laser de érbio em parâmetros com baixa densidade de energia aumenta o conteúdo superficial de cálcio, magnésio, sódio e fósforo (Secilmis et al., 2008). Autores (Sennou et al., 1999) explicam que a adesão do CIV convencional à dentina ocorre através da formação de uma camada intermediária de rápida difusão iônica: alumínio, silício, flúor e estrôncio do CIV para a dentina e cálcio e fósforo da mesma para o CIV. Diante de uma maior quantidade de cálcio e fósforo disponíveis na dentina irradiada, a adesão ao CIV convencional é beneficiada.

De fato, o valor de $10,54 \pm 1,16 \text{ MPa}$ de RU encontrado no grupo G2, mais do que o dobro dos outros três grupos, corrobora com a sugestão apresentada acima. Esta análise não seria completa sem a avaliação do padrão de fratura. Em relação aos outros grupos, o grupo G2 apresentou a menor porcentagem de fratura adesiva (48,9 %) e a maior porcentagem de fratura mista (46,7 %), o que sugere que a RU do CIV à dentina atingiu seu grau máximo, uma vez que esse material não resiste a forças muito superiores a 10 MPa, determinadas por testes de microcisalhamento (Yip et al., 2001; Bonifácio, 2008).

Há um consenso de que o laser Er,Cr:YSGG tem menor poder de ablação que o laser o Er:YAG, devido a sua maior afinidade pela hidroxiapatita e pouca dependência do conteúdo de água, considerando-se especialmente a dentina

(Meister et al., 2006; Lin et al., 2010). Assim, com parâmetros mais baixos e fluxo de água/ar adequados para a refrigeração, é possível ter um bom controle do tipo de superfície dentinária desejada. Além disso, devido ao fato do limiar de ablação da dentina ser a partir de $2,69 \text{ J/cm}^2$ (Lin et al., 2010), e que acima de $33,9 \text{ J/cm}^2$ a dentina tem sua microdureza reduzida em pelo menos 30 % (Meister et al., 2006), parâmetros de irradiação com baixas densidades de energia são os mais adequados para não provocar alterações estruturais na dentina.

Outra observação que nos leva a estar ainda mais seguros dos resultados obtidos é o fato de haver no grupo G2 maior pigmentação nos locais de incidência dos pulsos do laser. Pelo fato do Ponceau S ser um corante com afinidade por componentes orgânicos, pode-se afirmar que o parâmetro de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG com 0,5 W e 9 J/cm^2 (G2) além de remover a camada de esfregaço, não promove alteração na matriz colágena da dentina, uma vez que o corante foi capaz de interagir e pigmentar a dentina irradiada. Todavia, nos grupos G3 e G4, nos quais parâmetros de irradiação mais elevados foram utilizados, os locais de incidência dos pulsos encontravam-se menos corados que nas demais áreas indicando haver alteração da matriz colágena.

Do exposto, estamos certos de que o parâmetro de irradiação 0,5 W, 9 J/cm^2 , 25 mJ por pulso para condicionamento da dentina com laser de Er,Cr:YSGG é capaz de aumentar a interação do substrato irradiado com CIV convencional. Não há relato prévio na literatura da utilização deste parâmetro.

Os grupos G3 e G4, irradiados respectivamente com 1,0 W, 18 J/cm^2 , 50 mJ por pulso e 1,5 W, 27 J/cm^2 , 75 mJ por pulso, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparados entre si, exibindo os menores valores de RU observados neste estudo, indicando que estes parâmetros de irradiação não são adequados para condicionamento da dentina que será restaurada com CIV convencional.

Quando foi realizada a análise do padrão de fratura, a porcentagem de fratura adesiva, bem como a de corpos de prova fraturados anteriormente ao ensaio de adesão pelo teste de microcisalhamento, cresceu conforme o aumento do parâmetro de irradiação. Este fato comprova que o laser promove uma alteração estrutural da dentina que prejudica a adesão desta ao CIV.

Além disso, quanto maior a energia de irradiação, menor é o conteúdo de carbonatos e a dissolução dos cristais de hidroxiapatita, tornando o tecido irradiado

mais resistente à desmineralização (Rabelo et al., 2010). Portanto, o mesmo fica menos susceptível à ação do ácido poliacrílico contido no líquido do CIV, impedindo sua interação com a dentina. Esta redução da adesão também deve estar acompanhada pela diminuição da ligação do ácido poliacrílico aos grupos carboxilas da hidroxiapatita (Yoshida et al., 2000).

Outro ponto que sustenta os baixos valores de RU encontrados nos grupos G3 e G4 é o fato de que, se há forças eletroestáticas de atração entre o colágeno tipo I presente na dentina e o ácido poliacrílico (Nezu; Winnik, 2000), e esse colágeno foi desnaturado durante a irradiação, a RU desses grupos é comprometida. A presença da desnaturação é comprovada no momento em que o corante orgânico utilizado não é capaz de agir sobre as áreas irradiadas com os parâmetros de irradiação dos grupos G3 e G4, indicando não haver conteúdo orgânico neste substrato.

Ao ser consultada a literatura, foram encontrados somente dois estudos que avaliaram a ação do condicionamento do substrato com laser de Er,Cr:YSGG na RU de CIVs (Ekworapoj et al., 2007b; Jordehi et al. 2007). No estudo de Jordehi et al. (2007) a irradiação da dentina com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 1 W, 50 mJ por pulso, diminuiu significativamente a RU do CIV convencional. Os achados de Jordehi et al. (2007) corroboram com os achados deste estudo quando adotado o mesmo parâmetro de irradiação (G3).

Por outro lado, no trabalho de Erworapoj et al. (2007b) os grupos irradiados apresentaram maior RU do que os tratados com broca. Todavia, o protocolo de irradiação utilizado não é mencionado no manuscrito impossibilitando comparações mais diretas.

É importante ressaltar que em ambos os estudos, o teste utilizado para avaliar a adesão foi o ensaio de microtração, havendo grande porcentagem de fratura do tipo coesiva de CIV. Resultados deste tipo interferem na confiabilidade dos dados obtidos, uma vez que a interface adesiva foi preservada, havendo falha no material. Ou seja, os valores obtidos referem-se à resistência do corpo do material restaurador e não a sua capacidade de adesão ao substrato dental.

Neste contexto, a fim de se obter melhores resultados da interação entre o laser e os tecidos estudados, é importante o conhecimento dos fenômenos ondulatórios que explicam a existência física do laser. Por exemplo, os diferentes comprimentos de onda têm maior ou menor absorção pela água presente no esmalte

e na dentina (Meister et al., 2006), e determinam topografias microscopicamente variadas, que podem interferir clinicamente na RU aos materiais restauradores. Além disso, mudanças mínimas nos parâmetros de potência e densidade de energia podem criar desde leves alterações superficiais no substrato até uma interface amorfa, praticamente inerte aos processos adesivos (Zhan et al., 2009; Moretto et al., 2010).

O emprego do laser de alta potência na odontologia para o preparo e condicionamento das estruturas dentárias está se tornando uma tecnologia cada vez mais estudada, ainda que restrita aos centros de excelência de atendimento (Matsumoto et al., 2002). Mas assim como outros equipamentos que no passado se limitavam aos laboratórios de pesquisa, o laser pode num futuro próximo realizar cada vez mais procedimentos rotineiros como remoção de cárie, desinfecção radicular, cirurgias periodontais, preparos cavitários entre outros. Nossa contribuição à área do conhecimento reside no fato de termos estabelecido um protocolo de irradiação que condiciona a dentina sem alterar sua estrutura orgânica aumentando a adesão do CIV convencional à dentina. Ressalta-se ainda que esta irradiação é capaz de reduzir a contagem bacteriana (Franzen et al., 2009), o que é fundamental para o sucesso de procedimentos de ART e preparo de boca.

7 CONCLUSÃO

O parâmetro de irradiação que utilizou a densidade de energia de 9 J/cm^2 , potência média $0,5 \text{ W}$, 25 mJ por pulso mostrou-se o mais adequado para condicionar a superfície de dentina previamente à utilização do CIV convencional, observando-se aumento significativo da RU nesta condição de irradiação.

REFERÊNCIAS

- Adu-Arko AY, Sidhu SK, McCabe JF, Pashley DH. Effect of an Er,Cr:YSGG laser on water perfusion in human dentine. *Eur J Oral Sci.* 2010 Oct;118(5):483-8.
- Ansari ZJ, Fekrazad R; Feizi S; Younessian F; Kalhori KAM; Gutjnecht N. The effect of an Er,Cr:YSGG laser on the micro-shear bond strength of composite to the enamel and dentin of human permanent teeth. *Lasers Med Sci.* 2011. DOI 10.1007/s10103011-0961-7.
- Aranha AC, Eduardo CP, Gutknecht N, Marques MM, 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 Tech.* 2007 Aug;70(8):745-51.
- Attar N, Onem A. Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil* 2002;29(8):791-8.
- Banomyong D, Palamara JEA, Burrow MF, Messer HH. Effect of dentin conditioning on dentin permeability and micro-shear bond strength. *Eur J Oral Sci.* 2007;115(6):502-9.
- Barry TI, Clinton DJ, Wilson AD. The structure of a glass-ionomer cement and its relationship to the setting process. *J Dent Res.* 1979 Mar;58(3):1072-9.
- Basaran G, Hamamci N, Akkurt A. Shear bond strength of bonding to enamel with different laser irradiation distances. *Lasers Med Sci.* 2011;26:149-56.
- Bonifácio CC. Estudo da resistência adesiva de cimentos de ionômero de vidro à dentina: microtração x microcissalhamento [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2008.
- Botta SB, Ana PA, de Sa Teixeira F, da Silveira Salvadori MC, Matos AB. Relationship between surface topography and energy density distribution of Er,Cr:YSGG beam on irradiated dentin: an atomic force microscopy study. *Photomed Laser Surg.* 2011 Apr;29(4):261-9.
- Botta SB, da Ana PA, Zezell DM, Powers JM, Matos AB. Adhesion after erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser application at three different irradiation conditions. *Lasers Med Sci.* 2009 Jan;24(1):67-73.
- Box GEP, Hunter JS, Hunter WG. Statistics for experimenters: Design, innovation, and discovery. Hoboken: Wiley & Sons; 2005.
- Cox CJ, Pearson GJ, Palmer G. Preliminary in vitro investigation of the effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on enamel and dentine. *Biomaterials.* 1994 Nov;15(14):1145-51.

¹ De acordo com estilo Vancouver.

Eduardo CP. Lasers in prosthodontics and esthetics. Proceedings of the 1st international workshop of evidence based dentistry on lasers in Dentistry. Berlin: Quintessence Publishing; 2007, p. 183-202.

Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers Med Sci*. 2007a Sep;22(3):175-82.

Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of surface conditioning on adhesion of glass ionomer cement to Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin. *Photomed Laser Surg*. 2007b Apr;25(2):118-23.

Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Apel C, Turbino ML, Aranha AC, Eduardo Cde P, Gutknecht N. Bond strength of self-etching primer to bur cut, Er,Cr:YSGG, and Er:YAG lased dental surfaces. *Photomed Laser Surg*. 2007 Oct;25(5):373-80.

Ferreira LS, Apel C, Francci C, Simoes A, Eduardo CP, Gutknecht N. Influence of etching time on bond strength in dentin irradiated with erbium lasers. *Lasers Med Sci*. 2010 Nov;25(6):849-54.

Ferreira MC. Preparo de amostras para a realização do teste de microdureza. 2004, 32p. http://www.ccs.ufsc.br/posodonto/Preparoamostras_microdureza.pdf> Acesso em: 02 jun. 2012.

Franzen R, Esteves-Oliveira M, Meister J, Wallerang A, Vanweersch L, Lampert F, Gutknecht N. Decontamination of deep dentin by means of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser irradiation. *Lasers Med Sci*. 2009 Jan;24(1):75-80.

Geiger SB, Weiner S. Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *Dent Mater*. 1993 Jan;9(1):33-6.

Geraldo-Martins VR, Lepri CP, Palma-Dibb RG. Effect of different root caries treatments on the sealing ability of conventional glass ionomer cement restorations. *Lasers Med Sci*. 2012 Jan;27(1):39-45.

Glasspoole EA, Erickson RI, Davidson CI. Effect of surface treatment on the bond strength of glass ionomer to enamel. *Dent Mater*. 2002;18:454-62.

Goldman JE. Avaliação longitudinal da adesão à dentina irradiada pelo laser Er,Cr:YSGG [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2009.

Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature*. 1964 July;203(4943):417.

Gow AM, McDonald AV, Pearson GJ, Setchell DJ. An in vitro investigation of the temperature rises produced in dentine by Nd:YAG laser light with and without water cooling. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 1999 June-Sep;7(2):71-7.

Gutknecht N, Esteves-Oliveira M. Lasers for hard tissue, cavity preparation and caries removal. In: Proceedings of the 1st international workshop of evidence based dentistry on lasers in Dentistry. Berlin: Quintessence Publishing Co; 2007. Capítulo IV, p. 67-99.

Harashima T, Kinoshita J, Kimura Y, Brugnera A, Zanin F, Pecora JD, Matsumoto K. Morphological comparative study on ablation of dental hard tissues at cavity preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb;23(1):52-5.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17(4):155-9.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Suzuki N, Murakami Y, Matsumoto K. Analysis of surface roughness of enamel and dentin after Er,Cr:YSGG laser irradiation. *J Clin Laser Med Surg.* 2001 Dec;19(6):297-303.

Jordehi AY, Ghasemi A, Zadeh MM, Fekrazad R. Evaluation of microtensile bond strength of glass ionomer cements to dentin after conditioning with the Er,Cr:YSGG laser. *Photomed Laser Surg.* 2007 Oct;25(5):402-6.

Kantola S. Laser-induced effects on tooth structure. IV. A study of changes in the calcium and phosphorus contents in dentine by electron probe microanalysis. *Acta Odontol Scand.* 1972 Oct;30(4):463-74.

Kantola S. Laser-induced effects on tooth structure. VII. X-ray diffraction study of dentine exposed to a CO₂ laser. *Acta Odontol Scand.* 1973 Dec;31(6):381-6.

Kato C, Taira Y, Suzuki M, Shinkai K, Katoh Y. Conditioning effects of cavities prepared with an Er,Cr:YSGG laser and an air-turbine. *Odontology.* 2011 May 22 [Epub ahead of print].

Kawahara H, Imanishi Y, Oshima H. Biological evaluation on glass ionomer cement. *J Dent Res.* 1979 Mar;58(3):1080-6.

Kimyai S, Mohammadi N, Navimipour EJ, Rikhtegaran S. Comparison of the effect of three mechanical surface treatments on the repair bond strength of a laboratory composite. *Photomed Laser Surg.* 2010 Oct;28 Suppl 2:S25-30.

Korkmaz Y, Ozel E, Attar N, Bicer CO. Influence of different conditioning methods on the shear bond strength of novel light-curing nano-ionomer restorative to enamel and dentin. *Lasers Med Sci.* 2010;25:861-6.

Koshiro K, Inoe S, Humi K, Sano H. Bond strength and SEM observation of CO₂ laser irradiated denti, bended with simplified- step adhesives. *Oper Dent.* 2005 mar-apr;30(2):170-9.

Lin S, Liu Q, Peng Q, Lin M, Zhan Z, Zhang X. The ablation threshold of Er:YAG laser and Er,Cr:YSGG laser in dental dentin. *Sci Res Essays* [periódico na Internet].

2010 Aug [citado 4 apr. 2012];5(16):2128-35. Disponível em:
<http://www.academicjournals.org/sre/pdf/pdf2010/18%20Aug/Lin%20et%20al.pdf>

Maiman TH. Optical and microwave-optical experiments in ruby. *Phys Rev Lett*. 1960a June;4(11):564-7.

Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*. 1960b Aug;187(4736):493-4.

Malkoc MA, Taşdemir ST, Ozturk AN, Ozturk B, Berk G. Effects of laser and acid etching and air abrasion on mineral content of dentin. *Lasers Med Sci*. 2011 Jan;26(1):21-7.

Matis BA, Cochran M, Carlson T. Longevity of glass-ionomer restorative materials: results of a 10-year evaluation. *Quintessence Int*. 1996;27(6):373-83.

Matsumoto K, Hossain M, Hossain MM, Kawano H, Kimura Y. Clinical assessment of Er,Cr:YSGG laser application for cavity preparation. *J Clin Laser Med Surg*. 2002 Feb;20(1):17-21.

Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H, Stanzel S, Lampert F, Apel C. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt*. 2006 May-June;11(3):1-7.

Moretto SG, Azambuja-Junior N, Arana-Chavez VE, Reis AF, Giannini M, Eduardo CP, Freitas PM. Análise morfológica de superfícies dentinárias irradiadas com os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*. 2010 Jan;12(1):13-8.

Mount GJ. An atlas of glass-ionomer cements: a clinician's guide. 3a ed. London: Martin Dunitz; 2002. 201 p.

Navimipour EJ, Oskoe SS, Oskoe PA, Bahari M, Rikhtegaran S, Ghojzadeh M. Effect of acid and laser etching on shear bond strength of conventional and resin-modified glass-ionomer cements to composite resin. *Lasers Med Sci*. 2012 mar;27(2):305-11. Epub 2011 Jan14.

Nezu T, Winnik FM. Interaction of water-soluble collagen with poly(acrylic acid). *Biomaterials*. 2000 Feb;21(4):415-9.

Neves AA, Coutinho E, Cardoso MV, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Current Concepts and Techniques for Caries Excavation and Adhesion to residual Dentin. *J Adhes Dent*. 2011;13:7-22.

Obeidi A, Liu P, Ramp LC, Beck P, Gutknecht N. Acid-etch interval and shear bond strength of Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel and dentin. *Lasers Med Sci*. 2010;25:363-9.

Oilo G. Characterization of glass ionomer filling materials. *Dent Mater*. 1988 June;4(3):129-33.

Olivi G, Angiero F, Benedicenti S, Iaria G, Signore A, Kaitsas V. Use of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser on human enamel tissues. Influence of the air-water spray on the laser-tissue interaction: scanning electron microscope evaluations. *Lasers Med Sci.* 2010 Nov;25(6):793-7.

Pereira LCG, Nunes MCP, Palma-Dibb RG, Powers JM, Roulet JF, Navarro MFL. Mechanical Properties and bond strength of glass-ionomer cements. *J Adhes Dent.* 2002; 4(1):72-80.

Perhavec T, Diaci J. Comparison of heat deposition of Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers in hard dental tissues. *J Laser Health Acad.* 2009;(2/1):1-6.

Rabelo JS, Ana PA, Benetti C, Valério MEG, Zezell DM. Changes in dental enamel oven heated or irradiated with Er,Cr:YSGG laser: analysis by FTIR. *Laser Phys.* 2010 Apr;20(4):871-5.

Schaller HG, Weihing T, Strub JR. Permeability of dentine after Nd:YAG laser treatment: an in vitro study. *J Oral Rehabil.* 1997 Apr;24(4):274-81.

Schawlow AL, Townes CH. Infrared and optical masers. *Phys Rev.* 1958 Dec;112(6):1940-9.

Scholtanus JD, Huysmans MCDNJM. Clinical failure of class-II restorations of a highly viscous glass-ionomer material over a 6-year period: A retrospective study. *J Dent.* 2007;35(2):156-62.

Secilmis A, Altintas S, Usumez A, Berk G. Evaluation of mineral content of dentin prepared by erbium, chromium:yttrium scandium gallium garnet laser. *Lasers Med Sci.* 2008 Oct;23(4):421-5.

Sennou HE, Lebugle AA, Grégoire GL. X-ray photoelectron spectroscopy study of the dentin-glass ionomer cement interface. *Dent Mater.* 1999 July;15(4):229-37.

Serra MC, Navarro MF, Freitas SF, Carvalho RM, Cury JÁ, Retief DH. Glass-ionomer cement surface protection. *Am J Dent.* 1994;7(4): 203-6.

Shimaoka AM, Andrade AP, Carvalho RCR. Influência da delimitação da área adesiva em estudos laboratoriais para mensuração de resistência adesiva. *RPG Rev Pós-Grad.* 2007;14(2):174-8

Tao L, Pashley DH. Shear bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. *Dent Mater.* 1988;4(6): 371-8.

Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoues S, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P. Glass-ionomer adhesion: the mechanism at the interface. *J Dent.* 2006;34:615-6.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J.* 1972;132(4):133-5.

Yip HK, Tay FR, Ngo HC, Smales RJ, Pashley DH. Bonding of contemporary glass ionomer cements to dentin. *Dent Mater*. 2001 Sep;17(5):456-70.

Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K. Evidence of chemical bonding at biomaterial-hard tissue interfaces. *J Dent Res*. 2000 Feb;79(2):709-14.

Zhan Z, Zhang X, Yu L, Xie S, Peng Q, Lin S. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on dentin ablation ability and substrate morphology. *Symposium on Photonics and Optoelectronics*, 2009. Aug 14-16. Wuhan, China [cited 2012 apr 4]. Available from:
<http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=5230127>

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 120/11
CAAE 0122.0.017.000-11

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa **"Influência do condicionamento da dentina na resistência de união de cimento de ionômero de vidro"**, de responsabilidade da pesquisadora Bruna Uglik Garbui, sob orientação da Profa. Dra. Adriana Bona Matos.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 11 de novembro de 2011.

Profa. Dra. Marcia Turolle Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP