LÍVIA TOSI TREVELIN

**Análise morfológica da dentina irradiada pelo laser de Er:YAG (SSP) com
diferentes larguras de pulso**

São Paulo
2015

LÍVIA TOSI TREVELIN

**Análise morfológica da dentina irradiada pelo laser de Er:YAG (SSP) com
diferentes larguras de pulso**

Versão Corrigida

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

2015

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 da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Trevelin, Livia Tosi.

Análise morfológica da dentina irradiada pelo laser de Er:YAG (SSP) com diferentes larguras de pulso / Livia Tosi Trevelin; orientadora Adriana Bona Matos. -- São Paulo, 2015.

59 p. : il. : fig. ; 30 cm.

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

Versão corrigida.

1. Dentina - Morfologia. 2. Laser - Odontologia. 3. Condicionamento dentinário. 4. Preparo da cavidade dentária. 5. Microscopia Eletrônica de Varredura. I. Matos, Adriana Bona. II. Título.

Trevelin LT. Análise morfológica da dentina irradiada pelo laser de Er:YAG (SSP) com diferentes larguras de pulso. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /2015

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho à minha mãe, Sueli, meu modelo de mulher, guerreira e vencedora. Responsável por me ensinar e moldar meus princípios e caráter. Palavras não são suficientes para expressar minha eterna gratidão e admiração. Obrigada pelo apoio incondicional!

Ao meu pai, Natanael. Nosso tempo juntos foi muito curto, mas repleto de amor, carinho, ensinamentos, orgulho e muita saudade...

Ao meu irmão, Leopoldo, pelo apoio, amizade e companheirismo ao longo de todos esses anos!

Ao meu noivo Eduardo Bacaro, presente que a vida me deu! Amigo mais sincero e verdadeiro, indispensável para meu crescimento e amadurecimento. Obrigada por sempre estar ao meu lado, me apoiando e incentivando nas mais diversas situações. Obrigada por fazer a minha vida especial!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof. ^a Dr^a. Adriana Bona Matos, exemplo de responsabilidade e competência, obrigada pela confiança depositada e oportunidades a mim oferecidas. Sua dedicação, empenho e incentivo foram fundamentais para meu crescimento. Tenho uma profunda admiração por seu trabalho.

Ao Prof. Dr. Victor Arana-Chavez pela ajuda nas fases de elaboração deste trabalho. Sua contribuição e valiosos ensinamentos foram essenciais para realização deste estudo.

À Prof. ^a Dr^a. Marcia Martins Marques, ao apoio e pelo exemplo de profissionalismo.

À Prof. ^a Dr^a. Ana Cecília Correa Aranha, pelas contribuições importantes para o encaminhamento do estudo e pelo carinho e dedicação transmitidos a mim.

À coordenadora do programa de Pós-graduação em Dentística, professora Márcia Martins Marques e ao vice, Prof. Dr. Glauco por todo apoio e confiança durante o curso.

Aos todos os professores do Departamento de Dentística, pela dedicação e por todos os ensinamentos transmitidos a mim.

À Elisangela Chinen, pela ajuda essencial no laboratório de Biologia Oral, sua companhia, amizade e dedicação foram fundamentais para realização deste trabalho.

À Técnica do Laboratório de Pesquisa Aplicada, Soninha, sempre presente, solícita e carinhosa.

A todos os colegas de Pós-graduação pelas experiências compartilhadas.

À minha querida turma da Pós-graduação, Raquel Marianna Lopez e Sandra Ribeiro Cunha, com certeza nossa jornada foi mais fácil e divertida junto a vocês. Nesses anos de convivência, aprendemos e crescemos muito!

À minha queridíssima amiga Thais Torralbo Lopez, companheira desde a graduação e fico muito feliz de compartilharmos este momento tão importante para nossas carreiras. Você é um exemplo de luta e perseverança!

Ao João Paulo Capp, um velho amigo que sempre me ajudou e tornou possível a realização deste trabalho.

Às minhas colegas de sala, Beatriz Togoro e Cynthia Soares de Azevedo, que muito me ensinaram e ao longo de nossa jornada e fortalecemos os laços de amizade.

Aos funcionários do Departamento de Dentística, da secretaria de Pós-Graduação e da Biblioteca da FOU SP, pela disponibilidade e pelo profissionalismo.

À Universidade de São Paulo, representada pelo Reitor, Prof. Dr. Marco Antônio Zago. E à Faculdade de Odontologia de São Paulo -FOUSP- representado por seu Diretor, Prof. Dr. Waldyr Antônio Jorge.

Ao CNPQ pela bolsa de estudos concedida durante a realização deste curso.

A todos os meus amigos e familiares que, de alguma forma, ajudaram a moldar a minha vida, meu trabalho, meus princípios e a consciência de que a vida se baseia em constante aprendizado.

"A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos"

Marcel Proust

RESUMO

Trevelin LT. Análise morfológica da dentina irradiada pelo laser de Er:YAG (SSP) com diferentes larguras de pulso [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2015. Versão corrigida

Este estudo se propôs a analisar as características morfológicas da dentina humana irradiada com laser de Er:YAG utilizando diferentes larguras temporal de pulso nos protocolos de preparo cavitário e pré-tratamento da dentina. Foram utilizados 18 molares humanos que foram seccionados no sentido méso-distal e amelocementário obtendo-se um disco plano de dentina. Em seguida foram lixados com uma sequência decrescentes de lixas para padronizar os espécimes em 2mm de espessura. Os grupos experimentais foram compostos a partir de 2 fatores de variação: 1) indicação clínica - preparo cavitário ($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}$), e pré-tratamento ($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}$); e 2) largura temporal de pulso - 50, 300 e 600 μs . Assim formaram-se 6 grupos experimentais com ($n=3$): G1($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}/50\mu\text{s}$); G2($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}/300\mu\text{s}$); G3($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}/600\mu\text{s}$); G4($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}/50\mu\text{s}$); G5($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}/300\mu\text{s}$); G6($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}/600\mu\text{s}$). Os espécimes foram irradiados com o laser de Er:YAG com comprimento de onda de 2,94 μm , de modo não contato, com uma distância de 7mm do feixe de saída, sob irrigação de 60ml/min de água e 40ml/min de ar. Após a irradiação, os espécimes foram processados e destinados à avaliação descritiva das imagens obtidas em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), nos diferentes grupos experimentais. A análise morfológica dos grupos irradiados revelou uma superfície irregular, ausência de *smear layer* que expõe a abertura dos túbulos dentinários, dentina peritubular evidente e, sem indícios de carbonização e derretimento para todos os protocolos utilizados. Os resultados deste estudo *in vitro* mostraram que a irradiação com o laser de Er:YAG promoveram um padrão morfológico microrretentivo característico de ablação para todos os grupos testados e os grupos G1 e G4, que utilizaram a menor largura temporal de pulso (50 μs), apresentaram uma superfície mais rugosa quando comparados aos demais grupos. Por fim, podemos concluir que a largura temporal de pulso influencia nas características morfológicas da dentina irradiada nas diferentes indicações clínicas testadas, preparo cavitário e pré-tratamento. A menor largura de pulso (50 μs)

produz uma morfologia mais irregular quando comparada as maiores larguras de pulsos (300 e 600 μ s).

Palavras-chave: Dentina; Laser de Er:YAG; Pré-tratamento dentinário; Preparo cavitário em dentina; Microscopia Eletrônica de Varredura.

ABSTRACT

Trevelin LT. Effect of Er:YAG (SSP) laser pulse widths on dentin - morphological analysis [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2015. Versão Corrigida

This study evaluated the morphological characteristics of Er:YAG laser irradiated dentin using different temporal pulses width on the protocols of cavity preparation and dentin pretreatment. Eighteen human molars were cut longitudinally in a mesiodistal direction and amelocemental junction providing dentin disks. Samples were polished in a decreasing silicon carbide paper to obtain standard 2mm thick disks. The experimental groups were divided by two variables: 1) clinical protocol – cavity preparation ($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}$) and pretreatment ($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}$); and 2) temporal pulse width – 50, 300 and 600 μs . Therefore, six experimental groups were ($n=3$): G1($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}/50\mu\text{s}$); G2($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}/300\mu\text{s}$); G3($E=200\text{mJ}/20\text{Hz}/600\mu\text{s}$); G4($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}/50\mu\text{s}$); G5($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}/300\mu\text{s}$); and G6($E=80\text{mJ}/2\text{Hz}/600\mu\text{s}$). The samples were irradiated with the Er:YAG laser using wave-length of 2.94 μm , in a non contact mode at a focal distance of 7mm from the target point under continuous water spray of 60-40ml/min. After the irradiation, the samples were processed and evaluated by scanning electron microscopic evaluation (SEM). The morphological analysis on the irradiated groups showed an irregular dentin surface, without smear layer, exposed dentinal tubules apertures, evidenced peritubular dentin, without carbonization and melting signs for all groups. A microretentive morphological pattern, characteristic of the ablation process could be observed in all groups. However, groups G1 and G4, that used 50 μs of temporal pulse width, presented a greater irregularity when compared to other groups. In conclusion, the temporal pulse width interfere on the morphological characteristic of the irradiated dentin, regardless of clinical protocol, cavity preparation and pretreatment. The shorter the pulse width (50 μs), the greater the surface irregularity.

Keywords: Dentin; Laser of Er:YAG; Pretreatment on dentin; Cavity preparation; Scanning Electron Microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Esquema ilustrativo da seleção das amostras.....	29
Figura 4.2 - Esquema ilustrativo do preparo das amostras.....	30
Figura 4.3 - Equipamento de Laser de Er:YAG - Fidelis III- Fotona.....	31
Figura 4.4 - Delineamento experimental	32
Figura 4.5 - Descrição dos grupos experimentais.....	32
Figura 4.6 - Translador motorizado ESP301, Newport Corporation.....	34
Figura 4.7 - Micrografias obtidas em MEV: características morfológicas das superfícies dentinárias irradiadas com laser de Er:YAG para protocolo de preparo cavitário utilizando diferentes larguras de pulso	37
Figura 4.8 - Micrografias obtidas em MEV: características morfológicas das superfícies dentinárias irradiadas com laser de Er:YAG para protocolo de pré-tratamento dentinário utilizando diferentes larguras de pulso...	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CO ₂	gás carbônico
Er:YAG	Érbio:ítrio-alumínio-granada
Er;Cr:YSGG	Érbio-cromo:ítrio-escândio-gálio-granada
FDA	Food and Drug Administration
HMDS	hexadimetilsilazane
Hz	Hertz
ICR	instrumento cortante rotatório
J/cm ²	joule(s) por centímetro quadrado
LP	Long pulse
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro (s)
µm	micrômetro(s)
µs	microssegundo(s)
MSP	Medium short pulse
Nd:YAG	neodímio- granada-de ítrio-alumínio
Nm	nanômetro
OH ⁻	íon hidroxila
SiC	carbeto de silício
SP	Short pulse
SSP	Super short pulse
VLP	Very long pulse

LISTA DE SÍMBOLOS

W	watt(s)
n	Número de espécimes
°C	grau(s) celsius
h	hora(s)
M	Molar
s	segundo(s)
kV	Kilovolt
°	graus(s)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
3 PROPOSIÇÃO	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 ASPECTOS ÉTICOS	28
4.2 SELEÇÃO, LIMPEZA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	28
4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	29
4.4 ESPECIFICAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE LASER	30
4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	31
4.6 DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	32
4.7 PROTOCOLO DE IRRADIAÇÃO	33
4.8 ANÁLISE DOS ESPÉCIMES EM MEV	34
5 RESULTADOS.....	36
6 DISCUSSÃO	41
7 CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO.....	56

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas tecnologias aliado ao avanço nas pesquisas científicas permitiram o desenvolvimento de materiais restauradores adesivos que são fundamentais para a odontologia moderna, que preconiza preparos minimamente invasivos objetivando a preservação da estrutura dental.

A filosofia de mínima intervenção possibilitou que diversos métodos alternativos, tais como a irradiação com os lasers de alta potência, fossem empregados para a remoção de tecido cariado, pré-tratamento dos substratos e realização de preparos cavitários.

A utilização da irradiação com laser de alta potência na odontologia é bem aceita pelos pacientes por realizar preparos com ruídos minimizados modificados, com ausência de vibração, pressão e, podendo em alguns casos, trabalhar sem a necessidade de anestesia, proporcionando um maior conforto e satisfação aos pacientes, com diminuição do tempo clínico de atendimento (Dunn et al., 2005; Obeidi et al., 2010). Adicionalmente, uma das grandes vantagens do emprego do laser é proporcionar a confecção de preparos ultraconservadores, não geométricos, como aqueles preconizados por Black (Black, 1945). Além disso, a irradiação com o laser promove uma redução microbiana, por meio do aumento da temperatura gerada durante a irradiação (Ando et al., 1996; Hibst et al., 1996; Mehl et al., 1999), sendo este um diferencial dos lasers em relação aos demais métodos de preparo dental.

Dentre os diversos tipos de lasers de alta potência utilizados pela odontologia, o laser de Er:YAG destaca-se por sua eficiência e aplicabilidade em tecidos dentais duros. O Er:YAG atua no substrato dental por meio do processo denominado de ablação termomecânica, que consiste no aumento de temperatura na superfície do tecido que leva ao aumento da pressão interna e resulta em microexplosões, com consequente remoção do tecido dental (Hibst; Keller, 1989).

A quantidade de tecido ablacionado depende de diferentes parâmetros do protocolo de irradiação, tais como, energia, largura temporal do pulso, taxa de repetição, tempo de irradiação e a interação entre o laser e o substrato (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989; Corona et al., 2007; Mehl et al., 1997). Portanto, de acordo

com o protocolo empregado, o laser pode tanto remover tecido dental duro, realizando preparo cavitário ou apenas promover condicionamento superficial.

A irradiação do tecido com o laser gera um padrão morfológico diferente daquele obtido pelo método operatório tradicional, que utiliza instrumentos cortantes rotatórios (ICR). A literatura mostra que a superfície irradiada pelo laser de Er:YAG apresenta um padrão morfológico irregular, ausência de *smear layer*, túbulos dentinários abertos e dentina peritubular proeminente (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989; Aranha et al., 2007), sugerindo ser este um tecido favorável à adesão.

Contudo, a literatura existente é muito controversa quanto ao emprego do laser de alta potência (Obeidi et al., 2010) para preparo cavitário e pré-tratamento da dentina para posterior procedimento restaurador adesivo. Existem autores que são favoráveis a utilização do laser por demonstrarem por meio de ensaios laboratoriais, valores de resistência de união superiores (Bertrand et al., 2006; Visuri et al., 1996a) ou iguais (Celik et al., 2006; Staninec et al., 2006) aos valores obtidos quando a adesão é realizada em tecidos tratados pelo método convencional. Por outro lado, existem autores contrários ao emprego do laser, acreditando que sua utilização gera um aumento de temperatura que causa efeitos termomecânicos que podem se estender à dentina subsuperficial, denaturando as fibrilas colágenas (Ceballos et al., 2002; Ishizaka et al., 2002; Sassi et al., 2004; Barceleiro et al., 2005; Ramos et al., 2010). Estas alterações na superfície podem estar relacionadas ao calor residual acumulado nos tecidos irradiados (Fried et al., 2001). Estudos demonstram que quanto maior a largura de pulso, maior o calor residual durante a irradiação (Fried et al., 2001). Estes efeitos podem interferir na penetração do sistema adesivo e, consequentemente, comprometer a integridade da interface adesiva (Ceballos et al., 2002).

No contexto da evolução tecnológica, novos equipamentos de Er:YAG surgiram com características promissoras que permitem, além do ajuste de todos os parâmetros do laser, tais como, energia (mJ), frequência (Hz), refrigeração (ar /água), permite a seleção da largura temporal de pulso (μ s) ou largura de pulso. Nesta regulação, o emprego de pulsos mais curtos, denominados “super short pulse”, o tempo de irradiação é diminuído com o objetivo de minimizar ou superar os efeitos termomecânicos comumente observados com os lasers com larguras de pulsos longos.

Portanto, este estudo se propôs a investigar se a largura temporal de pulso é um componente do protocolo de irradiação que possa influenciar nas características morfológicas da dentina ablacionada, irradiada com energias para preparo cavitário e para pré-tratamento. Assim, com maior entendimento sobre os efeitos térmicos e mecânicos dos lasers de Er:YAG será possível executar preparos cavitários e pré-tratar os tecidos para confecções de restaurações adesivas, consoante ao conceito de mínima intervenção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

De acordo com os preceitos da Odontologia moderna, o laser destaca-se como método alternativo para realizar preparos conservadores na estrutura dental. A palavra laser é oriunda do inglês, Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, que em português significa amplificação da luz por emissão estimulada da radiação.

O laser é classificado de acordo com a composição do meio ativo, que é responsável pelo comprimento de onda emitido. Os meios podem ser líquidos (laser de corante), sólidos (laser de Nd:YAG, de Er:YAG, de Er,Cr:YSGG) ou gasosos (lasers de CO₂ e argônio). De acordo com o meio ativo utilizado, a emissão de luz ocorrerá com um comprimento de onda específico. Quando associado a outros parâmetros, tais como, energia (mJ), frequência (Hz), duração de tempo (μs), potência (W), promove diferentes interações com cada tipo tecido (Sassi et al., 2004).

Dentre os diversos tipos de lasers supracitados na Odontologia, o laser de Er:YAG é um dos mais recomendados para ser utilizado no tecido dental duro. Isso é devido o comprimento de onda de 2,94μm coincidir com o pico de absorção máxima da banda da água (3,0 μm) e resultar em uma alta afinidade pelo íon hidroxila (OH⁻), presente nas moléculas de água e da hidroxiapatita, proporcionando uma boa interação com esmalte, dentina e cimento (Hibst; Keller, 1989; Gurgan et al., 2009).

Embora os primeiros estudos com esse laser tenham ocorrido em 1988 (Hibst et al., 1988) apenas em 1997, a FDA, órgão responsável pelo controle médico nos Estados Unidos, aprovou a utilização do laser de Érbio para preparo cavitário e remoção de tecido cariado, por não causar injúrias térmicas à polpa e aos tecidos circunvizinhos (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989).

O laser de Érbio age no tecido dental duro por meio do fenômeno denominado ablação termomecânica. Quando o tecido dental é irradiado, a radiação incidente é altamente absorvida pelas moléculas de água da estrutura dental ocasionando um rápido aquecimento e evaporação da água no tecido, levando a um aumento da pressão interna seguido de sucessivas microexplosões com ejeção dos tecidos (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989).

A literatura mostra que a irradiação do tecido com o laser de Er:YAG promove mínimo dano térmico à polpa e aos tecidos adjacentes, especialmente quando irradiados com contínua irrigação (Hibst; Keller, 1989; Eversole; Rizoiu, 1995). Estudos demonstram a importância de usar o *spray* de água para a refrigeração durante a ablação de tecidos duros, para aumentar a eficiência do corte (Burkes et al., 1992; Lii et al., 1992; Visuri et al., 1996b; Hossain et al., 1999) e evitar um aumento de temperatura maior que 5°C (Paghdiwala et al., 1993; Visuri et al., 1996b; Armengol et al., 2000). De acordo com o clássico estudo realizado por Zach e Cohen (1965), observaram que o tecido pulpar é extremamente sensível a variações de temperatura e um aumento de temperatura de 5,6°C pode resultar em necrose pulpar em 15% dos casos.

A capacidade do laser de Érbio em remover esmalte e dentina foi comparável ao obtido pelo método operatório tradicional, com o uso de motores odontológicos (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989). A diferença na composição dos tecidos dentais mineralizados resulta no menor limiar de ablação da dentina quando comparada ao esmalte, visto que a dentina possui um maior conteúdo orgânico e água (Hibst; Keller, 1989; Li et al., 1992). Portanto, os parâmetros de irradiação devem ser determinados de acordo com a composição dos diferentes tecidos a serem irradiados (Miserandino; Pick, 1995).

O laser de érbio possui a capacidade de remover com reletiva seletividade o tecido cariado (Eberhard et al., 2005). A eficiência para remoção deste tecido é maior em comparação com o tecido sadio. Essa maior ablação gerada, é decorrente do aumento do conteúdo de água no tecido cariado (Raucci-Neto et al., 2007). Esta relação entre o conteúdo de água do substrato e a proporção de ablação foi previamente observada por Hibst e Keller (1989), Armegol et al. (1999) e Mercer et al. (2003). O uso do laser para remover tecido cariado é uma ferramenta importante quando se trabalha na linha de mínima intervenção, onde a dentina infectada é removida e a dentina afetada é mantida no assoalho cavitário para posterior restauração.

Adicionalmente, a irradiação do tecido dental com parâmetros adequados, promove uma redução microbiana (Ando et al., 1996; Hibst et al., 1996; Mehl et al., 1997) sem alterar a dentina. Tão importante quanto à redução bacteriana, é promover um bom selamento marginal, evitando a microinfiltração e o aparecimento de cáries secundárias. Assim, contribui para um melhor prognóstico e uma maior

longevidade das restaurações adesivas de acordo com o conceito de mínima intervenção.

A interação física entre o laser e o tecido, depende da natureza deste tecido, da quantidade de água, das características da radiação e dos diversos parâmetros empregados (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989). De acordo com os diferentes parâmetros utilizados, o laser pode promover o pré-tratamento da dentina ou mesmo remover tecido dental duro, realizando preparo cavitário (Sakakibara et al., 1998).

Estudos clínicos e *in vitro* têm mostrado a eficiência e a aplicabilidade deste laser na remoção de cárie, preparo cavitário e pré-tratamento de esmalte e dentina (Keller et al., 1998; Yamada et al., 2001; Kohara et al., 2002).

As superfícies dentinárias preparadas com o laser de Érbio apresentam características macroscópicas e morfológicas diferentes daquelas obtidas pelo método operatório tradicional (Aranha et al., 2007), que produz cavidades extensas, com bordas delimitadas e presença de *smear layer*.

Estudos de microscopia eletrônica de varredura demonstram que as superfícies preparadas pelo laser de Er:YAG apresentam um padrão morfológico irregular, microrretentivo, rugoso, com ausência de *smear layer*, túbulos dentinários abertos e uma dentina peritubular mais evidente (Aoki et al., 1998; Armengol et al., 1999; Bertrand et al., 2004; Aranha et al., 2007; Freitas et al., 2007; Moretto et al., 2011; Baraba et al., 2013).

Túbulos dentinários abertos e ausência de *smear layer* são fatores que supostamente podem contribuir com a ligação do sistema adesivo a dentina irradiada (Visuri et al., 1996a; Aoki et al., 1998; Fradera; Bote, 1999) e autores (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989; Visuri et al., 1996a; Aoki et al., 1998; Tanji et al., 1997; Fradera; Bote, 1999; Manhães et al., 2005; Aranha et al., 2007) sugerem favorecimento aos procedimentos restauradores adesivos. Ao aplicar um sistema adesivo sobre a dentina irradiada, com aparência retentiva, formam-se *tags* resinosos por meio da infiltração do sistema adesivo nas microirregularidades criadas na dentina irradiada, sem a desmineralização (Samad-Zadeh et al., 2011).

Visuri et al. (1996a) sugerem que o pré-tratamento com laser pode substituir o condicionamento ácido. O pré-tratamento com o laser de Er:YAG tem sido muito descrito na literatura para preparar previamente os tecidos dentais para os procedimentos adesivos (Moritz et al., 1996; Moritz et al., 1998; Delfino et al., 2007; Staninec et al., 2006). Para esse propósito, tem-se indicado o uso de parâmetros

subablativos, ou seja, energias mais baixas que aquelas indicadas para preparo cavitário (Delmé; De Moor, 2007; Esteves-Oliveira et al., 2007).

É importante ressaltar que a forma como o pré- tratamento com laser age na estrutura dentinária é diferente daquela comumente observada com o condicionamento convencional.

O condicionamento com ácido fosfórico remove toda a *smear layer* e *smear plugs*. Por ser um agente desmineralizante, condiciona as dentinas peritubular, alargando a abertura dos túbulos dentinários, e a intertubular, expondo a rede de fibrilas colágenas desmineralizadas (Marshall et al., 1997), onde o sistema adesivo vai penetrar e formar a camada híbrida .

O pré-tratamento com o laser de Er:YAG não causa desmineralização da superfície dentinária, porque no processo de ablação, ocorre a depleção do colágeno da hidroxiapatita na superfície dentinária e consequentemente não há exposição da matriz colágena, a qual é necessária para a formação da camada híbrida (Marshall et al., 1997; Kataumi et al., 1998; Ceballos et al., 2001). Aqui surge o questionamento será que a dentina irradiada é mesmo favorável à adesão?

Diversos estudos são realizados na busca de um parâmetro correto de irradiação para o preparo cavitário e pré-tratamento de dentina. Entretanto, a grande quantidade de sistemas adesivos utilizados e a não padronização nas metodologias empregadas, gera uma grande variabilidade de resultados, muitas vezes, controversos.

Há relatos na literatura que mostram que a irradiação com o laser de Er: YAG podem aumentar os valores de resistência de união (Fowler; Kuroda, 1986; Meurman et al., 1992). Todavia, outros estudos demonstram valores mais baixos quando comparados aos procedimentos operatórios tradicionais.

Estudos realizados por Cebalos et al. (2002) explicam que a diminuição da resistência de união da dentina ablacionada é decorrente da formação de uma camada laser-modificada. A parte basal dessa camada mostra-se com ausência de espaço interfibrilar, devido à fusão das fibrilas colágenas desnaturadas remanescentes, que restringem a difusão do sistema adesivo nas subsuperfícies da dentina intertubular. Além disso, a literatura enfatiza fortemente que se ocorre um colapso ou qualquer alteração das fibrilas colágenas, a penetração do sistema adesivo torna-se incompleta, o que pode prejudicar os procedimentos adesivos restauradores (Nakabayashi; Sami, 1996).

Outros autores examinaram por meio de estudos de microscopia eletrônica de varredura e análises histológicas, as superfícies preparadas com o laser de Er:YAG e apontaram uma possível desnaturação das fibrilas colágenas da dentina (Aoki et al., 1998; Tokonabe et al., 1999). Ishizaka et al. (2002) explicam esta desnaturação, ressaltando que a ação do laser de Er:YAG na dentina não ocorre concomitantemente nos componentes orgânicos e inorgânicos, sugerindo que o laser interage primeiro com o componente orgânico, para depois atuar nos constituintes minerais. Nesta primeira interação, ocorre a diminuição drástica do número de processos odontoblásticos, indicando que a irradiação pode desnaturar o material orgânico presente na dentina.

Estudos histopatológicos demonstram que a dentina irradiada com o laser de Er:YAG apresenta uma camada superficial alterada, composta por microfragmentos e uma intensa impregnação de fucsina básica, indicando que há desnaturação das fibrilas colágenas (Burkes et al., 1992).

Outros estudos observaram que a irradiação com laser produz alterações estruturais na dentina que interferem na adesão, uma vez que, o efeito térmico resulta em degradação das fibrilas colágenas (Dela-Rosa et al., 2004; Bachman et al., 2005) ou modificação química da superfície da dentina com perda de carbonato, formação de novos cristais de hidroxiapatita e, conseqüentemente, uma superfície mais ácido - resistente (Dela-Rosa et al., 2004; Apel et al., 2005; Cecchini et al., 2005).

Numerosos estudos avaliaram a resistência de união e infiltração marginal em cavidades preparadas e pré-tratadas com o laser de Er:YAG e, a literatura mostra uma grande inconsistência de resultados. Embora não haja um consenso quanto ao uso do laser para preparo cavitário e pré--tratamento de superfícies, os estudos mostram que os efeitos da irradiação na estrutura dental dependem de diversos fatores, tais como: energia, taxa de repetição, distância focal, área do spot, propriedades estruturais do tecido, proporção ar e água e a largura temporal do pulso (Fried et al., 2002).

A largura temporal de pulso é um fator muito importante a ser considerado durante a irradiação por estar diretamente relacionada com a capacidade de ablação, a interação com o tecido (Miserandino; Pick, 1995), os efeitos térmicos (Lukac et al., 2004; Staninec et al., 2006) e a característica morfológica do tecido ablacionado (Apel et al., 2002; Lukac et al., 2004). A largura temporal do pulso é o

intervalo de tempo entre 2 pulsos consecutivos. Equipamentos anteriores de Er:YAG possuíam larguras de pulso fixadas em intervalos de valores entre 150-250 μ s (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989; Aoki et al., 1998; Dostalova et al., 1998; Keller et al., 1998; Shigetani et al., 2002).

A evolução da tecnologia permitiu o desenvolvimento de equipamentos que emitem pulsos mais curtos, como os “super short pulse”, que alcançam uma alta energia mais rapidamente, com consequente menor geração de calor, sendo chamada de ablação fria, com menor tempo de irradiação. Alguns equipamentos possibilitam o emprego larguras de pulsos de 50 μ s (Super Short Pulse - SSP), 100 μ s (Short Pulse - SP), 300 μ s (Medium Short Pulse - MSP), 600 μ s (Long Pulse - LP) e 1000 μ s (Very Long Pulse - VLP).

Há poucos estudos na literatura que avaliam a influência da largura do pulso na dentina irradiada e os resultados são variáveis. Estudos (Majaron et al., 1996; Nishimito et al., 2008) afirmam que quanto maior a largura de pulso, maior a profundidade de ablação. Contudo, enquanto alguns autores (Husein et al., 2006) identificaram que quanto maior a largura de pulso, mais rugosa é a dentina irradiada, outros autores (Nishimito et al., 2008) observaram não haver influencia do parâmetro largura de pulso sobre a rugosidade da dentina irradiada.

Carmelingo et al. (2004), relataram por meio de seus estudos que a largura do pulso é um fator crítico no processo de transferência de energia no aquecimento do tecido e na eficiência da ablação. Os efeitos do aquecimento são minimizados quando pulsos com curta duração são utilizados na ordem de 100 μ s ou menos. Ainda afirmaram por meio de MEV e Espectroscopia Micro-Raman (μ -RS) que a diminuição da largura do pulso parece aumentar a capacidade de ablação, mas induz modificações nas cadeias alifáticas da estrutura do colágeno. Mas sem evidências de danos térmicos, tais como fendas superficiais ou carbonização e também não houve evidência de formação de fosfato tri-cálcico, composto gerado a partir da hidroxiapatita em altas temperaturas.

Krmek et al. (2010) avaliaram a microinfiltração em cavidades classe V preparadas com o laser de Er:YAG utilizando larguras de pulsos de 100 μ s. O melhor resultado foi encontrado na cavidade preparada com laser (E=400mJ e F=15Hz) e condicionadas com ácido fosfórico a 37%. Os autores atribuem esse resultado ao fato de terem utilizado larguras de pulsos curtos associados com alta energia de

irradiação. Explicam que altas energias com baixas larguras de pulsos, a velocidade de ablação é maior que a velocidade de difusão do calor para dentro do tecido.

Por se tratar de uma nova tecnologia, poucos estudos foram encontrados na literatura (Bahrami et al., 2011; Firat et al., 2012; Baraba et al., 2013). Nos estudos desenvolvidos por Firat et al. (2012) utilizaram parâmetros de pré-tratamento de dentina com energia de 80mJ, frequência de 10Hz e com variação de largura de pulso de 50µs, 100µs e 150µs. Observaram que o pré-tratamento da dentina com a largura de 50µs exibiu valores de resistência de união que podem proporcionar uma adesão adequada. Concluíram que é possível eliminar o passo de condicionamento ácido dos sistemas adesivos tipo “condicione e lave” quando parâmetros de pré-tratamento de dentina e largura do pulso são adequadamente empregados. Entretanto, o pré-tratamento com o laser não causa a desmineralização da superfície dentinária e nenhuma matriz colágena é exposta, a qual é necessária para formação da camada híbrida (Ceballos et al., 2002), diferentemente do que ocorre com os agentes condicionantes.

Nos estudos realizados por Bahrami et al. (2011) utilizaram o laser de Er:YAG para preparo cavitário com uma energia de 200mJ, frequência de 20Hz e uma largura de pulso de 50µs. Em seguida, promoveram o pré-tratamento da dentina hígida com largura de pulso de 50µs, frequência de 10Hz, com variação da energia: 80mJ, 100mJ e 120mJ. Observaram que o uso de baixas energias (80mJ) associadas a larguras de pulsos super curtos resultaram em uma melhora significativa da resistência de união dos sistemas adesivos e resina à dentina. Os autores explicam este fato devido ao pré-tratamento com o laser utilizando baixa fluência eliminar a “camada basal laser modificada”, descrita por Ceballos et al., (2002), ou mesmo reduzir sua espessura, que pode interferir na profundidade de infiltração do sistema adesivo, o que leva a uma fraca força de aderência. De fato, Delmé et al., (2007) explicam que o uso de baixas fluências para pré-tratamento da dentina, podem reduzir as microfissuras formadas durante o processo de microexplosões, tornando a superfície mais homogênea.

Portanto, considerando que a utilização do laser é um método alternativo para o preparo e pré-tratamento da dentina, faz-se necessário investigar a influencia das diferentes larguras de pulso em nível morfológico da dentina nos protocolos indicados para preparo cavitário e pré-tratamento. Assim, com o maior conhecimento da ação da largura dos pulsos, será possível realizar preparo cavitário

e pré-tratamento de dentina sem que ocorra alteração das fibrilas colágenas, o que proporcionará uma melhor durabilidade dos procedimentos adesivos realizados.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem como proposta analisar por meio de MEV aspectos morfológicos da dentina humana irradiada com o laser de Er:YAG utilizando diferentes larguras de pulso em protocolos de irradiação utilizados para preparo cavitário e pré-tratamento.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos Éticos

Foram utilizados 18 terceiros molares humanos hígidos cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, com consentimento do Comitê de Ética em Pesquisa da mesma Instituição; parecer de aprovação número: 002717/ 2014 (Anexo A).

4.2 Seleção, limpeza e armazenamento das amostras

Dezoito molares foram examinados pela lupa estereoscópica digital (MiniView UBS Digital Microscope, Chinavision Wholesale, Guangdong, CN) para detectar defeitos e/ou lesões de cárie, sendo que a presença destes determinaram a exclusão do elemento da amostra. Os dentes selecionados foram limpos com curetas periodontais (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), com pasta de pedra pomes (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e escova tipo Robinson (KG Sorensen, Barueri, São Paulo, Brasil) montada em contra-ângulo e micro motor em baixa rotação (W&H –Dentalwerk Burmoos GmbH, Áustria). Após a profilaxia, os espécimes foram armazenados em água destilada, sob refrigeração a 4°C até o momento da utilização (Figura 4.1).

Figura 4.1 – Esquema ilustrativo da seleção das amostras

4.3 Preparo das amostras

Os elementos dentais foram seccionados horizontalmente para remoção do terço oclusal, expondo uma superfície plana de dentina, com auxílio de um disco diamantado em cortadeira metalográfica, sob refrigeração (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Buff, IL, EUA). Em seguida, um segundo corte foi realizado no limite amelocementário para remoção da porção radicular, obtendo-se um disco de dentina. Estes discos de dentina foram desgastados com auxílio da politriz automática (Ecomet 6/Automet 2 – Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) com a sequência de lixas de carbeto de silício (SiC): #180, #240, e #400, sob constante irrigação. Todos os espécimes foram padronizados com 2mm de espessura. Entre cada lixa, os espécimes foram lavados em água corrente. Findo esta etapa, os espécimes foram lixados com uma lixa de granulação #600, durante 60 segundos para padronizar a camada de esfregaço (Tao; Pashely, 1989).

Para limpeza dos resíduos do processo de corte e polimento, os espécimes foram imersos individualmente em água destilada e levados à cuba ultrassônica por 10 minutos (Ramos et al., 2010) .

A sequência do preparo das amostras está ilustrada a seguir (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Esquema ilustrativo do preparo das amostras

4.4 Especificações do Equipamento de Laser de Er:YAG

O laser de Er:YAG, modelo Fidelis ERIII 1000 (Fidelis – Fotona - Eslovênia) (Figura 4.1) pertencente ao Departamento de Dentística da FOUSP (Projeto FAPESP nº 2012/15141-6) possui comprimento de onda de 2,940µm, largura do pulso regulável entre 50 e 1000µs, taxa de repetição de 2 a 50 Hz, com potência média de 20 W, energia de 50mJ a 1500mJ, com um sistema de refrigeração (*spray* de ar/água) regulável e diâmetro do feixe de 0,9mm. Por este laser se encontrar na faixa da radiação infravermelha do espectro eletromagnético, possui um laser de diodo, que possui um comprimento de onda de 650nm, funcionando como feixe guia.

Este laser trabalha de forma não contato, sendo o foco ideal estabelecido por uma distância de 7mm da lente de saída do feixe até o tecido irradiado. O sistema é equipado com um braço articulado permanentemente ligado a ele, formando um ângulo de 90° com a peça de mão (Figura 4.3). O protocolo de irradiação utilizado neste estudo está detalhado a seguir.

Figura 4.3 – Equipamento de Laser de Er:YAG (Fidelis III- Fotona)

4.5 Delineamento experimental

Este estudo foi realizado em dentina hígida de molares humanos, com dois fatores de variação, indicação clínica e largura de pulso. As variáveis de resposta foram analisadas em um nível, análise morfológica da dentina irradiada (Figura 4.4).

Fatores de variação	Protocolo de irradiação	1. Preparo cavitário em dentina (200mJ / 20Hz) 2. Pré-tratamento em dentina (80mJ / 2Hz)
	Largura do Pulso	1. 50 μ s 2. 300 μ s 3. 600 μ s
Unidade experimental	Dentina oclusal de terceiros molares humanos hígidos	
Variável de resposta	1. Análise morfológica da dentina (n=3) (MEV).	

Figura 4.4 - Delineamento experimental

4.6 Divisão dos grupos experimentais

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos experimentais (n=3) conforme os fatores de variação testados (Figura 4.5).

<i>Largura de pulso (μs)</i>			
Indicação clínica	<i>50</i>	<i>300</i>	<i>600</i>
Preparo cavitário	G1	G2	G3
Pré-tratamento	G4	G5	G6

Figura 4.5 - Descrição dos grupos experimentais (n=3)

4.7 Protocolo de irradiação

Para os grupos G1, G2 e G3, o seguinte protocolo de irradiação foi realizado: energia – 200mJ, frequência 20Hz, com refrigeração padronizada de 60ml/min de água e 40ml/min de ar (determinado por estudo piloto).

Para os grupos G4, G5 e G6, o seguinte protocolo de irradiação foi realizado: energia – 80mJ, frequência 2Hz, com refrigeração padronizada de 60ml/min de água e 40ml/min de ar (determinado por estudo piloto).

Antes de iniciar a irradiação dos espécimes, a energia emitida pelo laser foi verificada por um medidor de potência (Coherent Field Master GS = Deletor LM45; Coherent CA, EUA).

Para a irradiação dos espécimes, foi utilizado um translador motorizado de alta precisão (ESP301, Newport Corporation, Irvine, CA, EUA) (Fig. 4.4). O translador é utilizado para posicionar o objeto ao longo de um eixo. Este sistema é composto por uma plataforma móvel e base fixa, acompanhada por um sistema de rolamento.

O espécime a ser irradiado, foi fixado na base e o translador foi acoplado ao computador para que, por meio de um programa de software, fosse esquematizado um percurso de irradiação que foi realizado para todos os espécimes. Pelo comando do computador, o translador movia-se no eixo X e eixo Y. A peça de mão do laser foi posicionada perpendicularmente à superfície do espécime (incidência a 90°), a uma distância de 7mm, com objetivo de padronizar e evitar irregularidades durante a irradiação.

Figura 4.6 – Translador Motorizado (ESP301, Newport Corporation, Irvine, CA, EUA)

4.8 Análise dos espécimes em microscopia eletrônica de varredura

Para análise em MEV, os espécimes foram imersos em uma solução de glutaraldeído 2,5%, tampão de fosfato de sódio à 0,1M com pH7,4 (SPI – CHEN – Spi supplies, PA, EUA) por 24 horas, para alcançar a fixação das fibrilas colágenas. Depois deste período, foram lavados com a mesma solução tampão, em que foram realizadas três lavagens de 5 min cada, sendo que a solução foi descartada após o contato com os espécimes.

Em seguida, os espécimes passaram para a fase de desidratação, onde foram armazenados individualmente, passando por concentrações crescentes de etanol: Álcool 30% por 10 min (duas imersões de 5 min); Álcool 50% por 10 min (duas imersões de 5 min); Álcool 70% por 10 min (duas imersões de 5 min); Álcool 90% por 10 min (duas imersões de 5 min); Álcool 96% por 10 min (duas imersões de 5 min); Álcool Absoluto (100%) por 20 min (quatro imersões de 5 min).

Após o processo de desidratação, os espécimes foram tratados em hexametildisilazano (HMDS – Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 20min e secos em temperatura ambiente na capela por 12 horas.

Após a secagem, os espécimes foram fixados com uma fita dupla-face em *stubs* de alumínio e cobertos com fina película de ouro; logo após, foram examinados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (JEOL 6460 – LV, Jeol Ltd. Tokio, Japão – Processo FAPESP 00/08231-1) pertencente ao Laboratório de Filmes Finos do IFUSP, operando à 20 Kv.

Para análise em microscopia eletrônica de varredura, eletromicrografias com magnificação na ordem de 1000X e 3000X foram obtidas das regiões mais representativas dos espécimes para aquisição das imagens.

5 RESULTADOS

5.1 Análise morfológica em microscopia eletrônica de varredura (MEV)

5.1.1 Protocolo de preparo cavitário

A irradiação dos tecidos dentinários com o laser de Er:YAG utilizando diferentes protocolos promoveram uma efetiva ablação termomecânica para todas as larguras de pulso empregadas.

As micrografias foram obtidas em 2 aumentos distintos: 1.000 e 3.000 vezes. A análise morfológica dos grupos G1, G2 e G3 revelou uma similaridade no padrão morfológico para as diferentes larguras de pulso empregadas. As micrografias mais representativas de cada grupo experimental estão apresentadas e detalhadamente descritas na figura 4.7.

Em todos os grupos experimentais, a análise morfológica revela um padrão característico de ablação, com uma superfície irregular, ausência de *smear layer*, túbulos dentinários abertos (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho), correspondendo às figuras 4.7A, 4.7B, 4.7C, 4.7D, 4.7E e 4.7F.

Em um aumento de 1.000 vezes identificamos que as superfícies dentinárias irradiadas com o protocolo para preparo cavitário, o grupo G1 que utilizou uma menor largura temporal de pulso, revela uma topografia rugosa com distribuição de picos e vales (setas laranja) homogênea por toda a superfície de dentina irradiada, correspondendo à figura 4.7A. Já para os grupos em que foi utilizada uma largura temporal de pulso de 300µs e 600µs, respectivamente grupo G2 e G3, traçado verde exibe a diferença de planos, causados pela remoção tecidual por meio do processo de ablação termomecânica (Figuras 4.7B e 4.7C). Quando comparadas ao grupo G1, observa-se serem menos rugosas.

Em um aumento de 3.000 vezes, a abertura dos túbulos pôde ser claramente observada (setas azuis na figura 4.7D, 4.7E e 4.7F). As micrografias não apresentam sinais de alterações como carbonização, trincas, derretimento ou

vitrificação para as diferentes larguras de pulso empregadas. Características observadas nas figuras 4.7D, 4.7E e 4.7F.

Figura 4.7 -Micrografia da superfície dentinária irradiada com o laser de Er:YAG no protocolo para preparo cavitário. Observa-se uma morfologia característica de ablação, superfície irregular, ausência de *smear layer*, túbulos dentinários abertos e dentina peritubular evidente (A, B, C – aumento de 1.000X; D, E, F – aumento de 3.000X)

A - Aumento de 1.000X, observa-se uma superfície rugosa com maior regularidade na distribuição dos picos e vales (setas laranja);

- B - Aumento de 1.000X, observa-se uma topografia em diferentes planos (traçado verde) da superfície dentinária irradiada, com a presença de picos e vales;
- C - Aumento de 1.000X, observa-se uma topografia com maior irregularidade da superfície dentinária irradiada com a presença de picos e vales em diferentes planos (traçado verde);
- D- Aumento de 3.000X, observa-se túbulos dentinários abertos em toda superfície (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho) ;
- E- Aumento de 3.000X, exposição dos túbulos dentinários (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho) em toda extensão da imagem;
- F- Aumento de 3.000X, observa-se uma superfície com exposição da abertura dos túbulos dentinários (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho) em toda região.

5.1.2 Protocolo de pré-tratamento dentinário

A irradiação dos tecidos dentinários com o laser de alta potência de Er:YAG utilizando o protocolo para pré-tratamento da dentina promoveu uma efetiva ablação termomecânica para todas as larguras de pulso empregadas.

As micrografias foram obtidas em 2 aumentos distintos: 1.000 e 3.000 vezes, sendo que as mais representativas de cada grupo experimental estão apresentadas e detalhadamente descritas na figura 4.8.

Em todos os grupos experimentais, a análise morfológica revela um padrão microrretentivo característico de ablação, com uma superfície irregular, sem desmineralização, ausência de *smear layer* expondo a abertura dos túbulos dentinários (setas azuis) e dentina peritubular evidente (círculos vermelhos), correspondendo às figuras 4.8 A, 4.8B, 4.8C, 4.8D, 4.8E e 4.8F.

Em um aumento de 1.000 vezes identificamos que a superfície dentinária irradiada com a menor largura temporal de pulso (G4) revelou uma topografia mais irregular com picos e vales (setas laranja) distribuído por toda a superfície. Quando a dentina é pré-tratada com uma maior largura de pulso (300µs e 600µs, respectivamente, G5 e G6), a superfície dentinária ablacionada, como um todo, apresenta diferentes planos (traçado verde, figuras 4.8B e 4.8C). Quando comparadas ao G4, observa-se serem menos rugosas.

Em um aumento de 3.000 vezes, a abertura dos túbulos pôde ser nitidamente observada (setas azuis na figura 4.8D, 4.8E e 4.8F). As micrografias não apresentam sinais de alterações como carbonização, trincas, derretimento ou

vitrificação para as diferentes larguras de pulso empregadas. Características observadas nas figuras 4.8D, 4.8E e 4.8F.

Figura 4.8 - Micrografia da superfície dentinária irradiada com o laser de Er:YAG no protocolo de pré-tratamento. Observa-se uma morfologia característica de ablação, superfície irregular, padrão microrretentivo, ausência de *smear layer*, abertura dos túbulos dentinários exposta e dentina peritubular proeminente (A, B, C – aumento de 1.000X; D, E, F – aumento de 3.000X).

A - Aumento de 1.000X, observa-se uma superfície rugosa e irregular com um padrão microrretentivo característico de ablação, composto por picos e vales (setas laranja) distribuídos por toda a região;

- B - Aumento de 1.000X, observa-se uma superfície com um padrão mais regular da superfície dentinária irradiada, com uma aparência escamosa;
- C - Aumento de 1.000X, observa-se superfície ablacionada em diferentes planos (traçado verde) (escamosa);
- D- Aumento de 3.000X, visualiza-se uma superfície com aparência irregular, com túbulos dentinários abertos em toda superfície (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho) ;
- E - Aumento de 3.000X, observa-se uma superfície dentinária mais regular quando comparada com a do grupo G4 D, com exposição dos túbulos dentinários (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho) em toda extensão da imagem;
- F- Aumento de 3.000X, observa-se uma superfície mais regular e plana (traçados verdes), marcada pela abertura dos túbulos dentinários (seta azul), dentina peritubular evidente (círculo vermelho) em toda região.

6 DISCUSSÃO

Desde a introdução do laser de erbio em dentina, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de estabelecer protocolos adequados e seguros para o preparo cavitário e o pré-tratamento da dentina. Parâmetros, tais como taxa de repetição, tempo de irradiação, distância focal, densidade de energia e a refrigeração possuem efeito significativo nas características morfológicas do tecido irradiado. A definição dos parâmetros de irradiação merece contínua investigação, pois observa-se na literatura grande variabilidade de metodologias e resultados, o que dificulta comparações e a escolha de um protocolo apropriado.

Sendo assim, foi realizado um levantamento bibliográfico em busca dos protocolos mais utilizados para a irradiação das superfícies dentinárias. Foi observado por meio de MEV, que o emprego de energias iguais ou superiores a 300mJ para preparo cavitário em dentina, produziram uma superfície com sinais de vitrificação e trincas. Estas características sugerem ser este um parâmetro alto, que pode resultar em recristalinização dos cristais de apatita e formação de uma fase adicional de fosfato de cálcio, fenômeno que pode ocorrer em altas temperaturas (Delmè et al., 2006; Delmè; De Moor, 2007). Assim, o emprego de energias mais baixas é mais eficiente e evita alterações na superfície dentinária irradiada (Freitas et al., 2007), por conseguinte, optou-se por utilizar uma energia de 200mJ, sendo este o parâmetro mais encontrado na literatura consultada (Hossain et al., 2003; Barceleiro et al., 2008; Chousterman et al., 2010; Bahrami et al., 2011; Raucci-Neto et al., 2011; Guven; Aktoren, 2013; Chen et al., 2013;).

Para o tratamento da dentina prévio à realização de procedimentos adesivos são indicados parâmetros subablasivos, ou seja, parâmetros mais baixos que aqueles indicados para preparo cavitário. Nesta circunstância, foi observado que energia de 80mJ é a mais utilizadas na literatura consultada (De Munck et al., 2002; Sassi et al., 2004; Delmè; De Moor, 2009; Bahrami et al., 2011; Firat et al., 2012; Guven; Aktoren, 2013; Baraba et al., 2013)

Neste estudo, foi utilizado um novo equipamento de laser de alta potência, permite a seleção da largura temporal de pulso. Foi realizado um estudo piloto em MEV para identificar se todas as regulagens possíveis, 50, 100, 300, 600 e 1000µs eram viáveis para a dentina. A maior largura temporal de pulso (1000µs) foi

imediatamente descartada devido à carbonização gerada na dentina irradiada. Já a largura de 100µs apresentou uma morfologia muito semelhante à largura de pulso de 300µs, que foi selecionada devido ao fato de equipamentos anteriores de érbio possuírem larguras de pulsos semelhantes (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989; Aoki et al., 1998; Dostalova et al., 1998; Keller et al., 1998; Shigetani et al., 2002; Aranha et al., 2007; Ramos et al., 2010; Chen et al., 2013), suportando as nossas premissas.

De acordo com o presente estudo, as eletromicrografias da superfície dentinária irradiada com o laser de Er:YAG nos protocolos de preparo cavitário e pré-tratamento, revelaram uma superfície característica de ablação, com ausência de *smear layer*, túbulos dentinários abertos e uma dentina peritubular evidente, corroborando com os resultados de estudos morfológicos realizados anteriormente (Aoki et al., 1998; Armengol et al., 1999; Bertrand et al., 2004; Aranha et al., 2007; Freitas et al., 2007; Moretto et al., 2011; Baraba et al., 2013).

Esse padrão morfológico está relacionado com o processo de remoção tecidual pelo mecanismo de ablação termomecânica. Neste processo, o laser causa inicialmente a vaporização da água e de outros componentes orgânicos presentes no interior do tecido, promovendo um aumento súbito de pressão interna na subsuperfície e ejetando partículas inorgânicas sob a forma de microfragmentos durante as microexplosões (Hibst; Keller, 1989; Aoki et al., 1998; Li et al., 1992).

A película de água que se forma na superfície irradiada é o mediador do processo de ablação (Meister et al., 2006). A água tem um papel importante na iniciação da ablação em tecidos dentais duros (Hossain et al., 1999) além de diminuir a temperatura, evitando danos térmicos à polpa. Adicionalmente quando o tecido dentinário é irradiado com um *spray* de água, aumenta a eficiência do corte (Burkes et al., 1992; Hossain et al., 1999)

Durante o processo de ablação, a maior parte da energia é consumida pelo processo e uma pequena parte desta energia resulta no aquecimento dos tecidos remanescentes (Aoki et al., 1998; Fried et al., 2001; Keller; Hibst, 1998). O calor residual gerado durante a irradiação tem sido relacionado à denaturação das fibrilas colágenas e pode comprometer a interface da integridade adesiva. (Ceballos et al., 2002).

Autores (Keller, 1989; Hibst; Keller, 1990) demonstraram, por meio de estudos de imagens que mensuram a temperatura da cavidade irradiada, que para vários

pulsos, o efeito do calor é cumulativo. O efeito de um único pulso é seguro, mas a influência do número de pulsos e a taxa de repetição exige uma definição de um parâmetro máximo tolerável.

A dentina é um tecido mineralizado complexo, arranjada em uma elaborada estrutura tridimensional, constituída pelos túbulos dentinários (que se estendem da polpa até a junção amelo-dentinária), dentinas peritubular e intertubular. A porção mineral da dentina é composta por apatita carbonatada e matriz orgânica, é constituída principalmente por fibrilas colágenas do tipo I, correspondendo a 90%, enquanto os 10% restantes são constituídos por proteínas não colagenosas, tais como fósfo-proteínas e proteoglicanos (Bertassoni et al., 2012).

A dentina peritubular, que constitui a parede dos túbulos dentinários, é um tecido quase que desprovido de fibrilas colágenas, sendo uma dentina altamente mineralizada (95% em volume de mineral). Circundando os túbulos dentinários, encontra-se uma dentina menos mineralizada (30% em volume de mineral), denominada de dentina intertubular. Esta por sua vez, é estruturalmente diferente da anterior, por possuir sua matriz orgânica constituída principalmente por fibrilas colágenas e água (Marshall, 1993).

Essa diferença estrutural das duas dentinas torna-se claramente observada em micrografias do tecido dentinário irradiado com o laser de Er:YAG. Durante a interação deste laser com o tecido dentinário ocorre uma maior ablação da dentina intertubular, devido ao comprimento de onda do laser de Er:YAG (2,94µm) coincidir com o principal pico de absorção da banda da água (3.0µm) e também é absorvida por grupos hidroxilas OH⁻ (2.8µm) na hidroxiapatita (Hibst; Keller, 1989; Gurgan et al., 2009).

Essa diferença é visualizada com uma aparência protruída da dentina peritubular (Aoki et al., 1998), que é menos ablacionada durante a irradiação, devido a maior quantidade de minerais e menor quantidade de água. Esses achados corroboram com pesquisas morfológicas anteriores (Aoki et al., 1998; Armengol et al., 1999; Bertrand et al., 2004; Aranha et al., 2007; Freitas et al., 2007; Moretto et al., 2011; Baraba et al., 2013).

Segundo Fried et al., (2002), as características morfológicas das superfícies dentinárias irradiadas com laser Er:YAG estão relacionadas com a interação do laser

às estruturas dentais duras e variam de acordo com os parâmetros de energia, frequência, refrigeração e largura de pulso.

Neste trabalho identificou-se que a largura temporal de pulso é um parâmetro que influencia na morfologia da superfície dentinária irradiada. Ao utilizar uma baixa duração de pulso, como 50 μ s, a energia emitida é totalmente transferida para o tecido durante a ablação, diferentemente dos pulsos longos, em que a eficiência ablativa é reduzida devido à perda condutora de calor por meio da interação com o tecido (Majaron et al., 1996; Lukac et al., 2004). Além disso, pulsos curtos como 50 μ s podem gerar fortes ondas elásticas no tecido dental duro onde é feita a ablação, devido ao aquecimento e expansão térmica (De Moor; Delmé, 2009). Ondas de estresse (tensões) podem resultar em fraturas e microfissuras no tecido dental duro durante a irradiação e como consequência, influenciar negativamente na resistência de união (Staninec et al., 2009).

Adicionalmente, Bahrami et al. (2011) explicam que ao utilizar uma menor largura de pulso, o tempo de radiação efetiva é diminuído e consequentemente fornece o dobro do tempo de descanso, resultando em uma ablação fria. Menores larguras de pulsos são mais eficientes no processo de ablação (Majaron et al., 1996; Staninec et al., 2006) e podem minimizar os efeitos termomecânicos gerados durante a irradiação (Carmelingo et al., 2004).

O emprego de pulsos curtos resulta em uma menor interação com o tecido (ação pontual) e concentra o calor na região irradiada que culmina com a microexplosão deste tecido (Bahrami et al., 2011). A topografia irregular composta por vales corresponde à região de maior concentração de energia do pulso emitido pelo laser e a sucessiva irradiação do tecido leva a formação de picos e vales. Diferentemente do que ocorre com pulsos longos, que devido ao maior tempo de contato, ocorre um prolongamento na interação com o tecido que permite que a energia seja espalhada para regiões adjacentes, resultando em um aumento da área ablacionada, formando platôs.

Pulsos longos empregados neste estudo, tais como 300 μ s e 600 μ s, produziram superfícies morfológicas semelhantes entre si, que puderam ser observadas em diferentes indicações clínicas, corroborando com os estudos realizados por Nishimoto et al. (2008). Estes autores não identificaram diferenças morfológicas na dentina irradiada com o laser de Er:YAG ao empregarem diversas larguras de pulsos, tais como 100 μ s, 150 μ s, 200 μ s, 300 μ s, 400 μ s e 500 μ s, utilizando o

protocolo de preparo cavitário. Afirmaram ainda que não houve danos térmicos, tais como fraturas, carbonização ou sinais de derretimento ou vitrificação em nenhum grupo experimental, assim como nos grupos deste estudo. Na comparação entre nosso trabalho e o de Nishimoto et al. (2008) nos leva a sugerir que o limite em que ocorre a modificação é justamente 50µs. Pois a partir de 100µs até 600µs não pode ser identificada nenhuma diferença morfológica na dentina irradiada.

Nos estudos desenvolvidos por Baraba et al. (2013), avaliaram a resistência de união de superfícies dentinárias irradiadas com o laser de Er:YAG no protocolo de pré-tratamento da dentina empregando diferentes larguras de pulsos. Os autores empregaram uma energia de 80mJ, frequência de 10Hz e largura de pulso de 50µs, 100µs e 300µs. Os valores mais baixos de resistência de união foram obtidos com a menor largura de pulso (50µs). Estes autores atribuem os baixos valores às modificações químicas ocorridas nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina induzidos por pulsos super curtos.

Já outros autores (Bahrami et al., 2011; Firat et al., 2012) ao avaliarem a resistência de união empregando os mesmos parâmetros de energia e frequência supracitados, obtiveram os melhores resultados empregando a largura de pulso de 50µs. Firat et al. (2012), relataram ainda, que com o aumento da largura do pulso empregada - 100µs e 150µs, a força de resistência de união dos espécimes irradiados diminuiu.

A adesão à dentina irradiada pode ser explicada pelo mecanismo de retenção mecânica proveniente da formação de *tags* resinosos e da infiltração do adesivo nas micro-irregularidades criadas durante a irradiação com o laser, sem a desmineralização da dentina (Ceballos et al., 2001). Apesar da irradiação com o laser produzir uma superfície dentinária rugosa, com ausência de *smear layer* que expõe a abertura dos túbulos dentinários e que tais características morfológicas são supostamente favoráveis aos procedimentos restauradores adesivos (Hibst; Keller, 1989; Keller; Hibst, 1989; Visuri et al., 1996a; Aoki et al., 1998; Tanji et al., 1997; Fradera; Bote, 1999; Manhães et al., 2005; Aranha et al., 2007), outros autores (Kataumi et al., 1998; Ceballos et al., 2001; Sassi et al., 2004) mostraram que não ocorre formação da camada híbrida quando a superfície é irradiada. Não ocorre a desmineralização da superfície dentinária e conseqüentemente não expõe a matriz colágena necessária para penetração do sistema adesivo (Ceballos et al., 2001), somada a presença de uma camada fusionada com ausência de espaços

interfibrilares, resultando em baixos valores de resistência de união (Ceballos et al., 2002).

A morfologia da dentina desempenha um papel importante na realização de procedimentos restauradores adesivos (Van Meerbeek et al., 1992). A permeabilidade dentinária aos adesivos é de crucial importância para obtenção de uma adesão eficiente e o modo de preparo dos substratos dentais influencia na infiltração do adesivo (Pashley; Carvalho, 1997).

Resultados controversos quanto à efetividade do laser de alta potência, tanto para preparo cavitário quanto para pré-tratamento, se devem a diversidade de parâmetros, de metodologias e de sistemas adesivos utilizados.

Assim, análises morfológicas não são elucidativas quanto à interação dos lasers de alta potência às estruturas dentais duras. Novas pesquisas são necessárias a fim de esclarecer possíveis alterações químicas e estruturais na constituição mineral da dentina irradiada e a condição das fibras colágenas após a irradiação. Além de analisar se os sistemas adesivos existentes no mercado são capazes de interagir com esta nova morfologia.

O emprego dos lasers de alta potência é um método alternativo importante para o tratamento das superfícies dentais duras e permite a preservação máxima das estruturas sadias consoante ao conceito de Odontologia minimamente invasiva.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, podemos concluir que a largura temporal de pulso influência nas características morfológicas da dentina irradiada nas diferentes indicações clínicas testadas, pré-tratamento e preparo cavitário. Superfície de dentina com morfologia mais irregular foi observada para os espécimes onde foi utilizada a largura de pulso de 50 μ s, quando comparados aos espécimes onde larguras de pulsos de 300 e 600 μ s foram utilizadas.

REFERÊNCIAS¹

Ando Y, Aoki A, Watanabe H, Ishikawa I. Bactericidal effect of erbium YAG laser on periodontopathic bacteria. *Lasers Surg Med*. 1996;19(2):190–200.

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

Apel C, Franzen R, Meister J, Sarrafzadegan H, Thelen S, Gutknecht N. Influence of the pulse duration of an Er: YAG laser system on the ablation threshold of dental enamel. *Lasers Med Sci*. 2002;17(4): 253–7.

Apel C, Meister J, Gotz H, Duschner, H, and Gutknecht N. Structural changes in human dental enamel after subablative erbium laser irradiation and its potential use for caries prevention. *Caries Res*. 2005 Jan - Feb;39(1): 65–70.

Aranha ACC, 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.

Armengol V, Jean A, Marion D. Temperature rise during Er:YAG and Nd:YAP laser ablation of dentin. *J Endod*. 2000 Mar;26(3): 138–41.

Armengol V, Jean A, Rohanizadeh R, Hamel H. Scanning electron microscopic analysis of diseased and healthy dental hard tissues after Er:YAG laser irradiation: In vitro study. *J Endod*. 1999 Aug;25(8):543– 6.

Bachmann L, Diebolder R, Hibst R, Zezell DM. Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc*. 2005 Sep;61(11-12):2634– 9.

Bahrami B, et al., Effect of low fluency dentin conditioning on tensile bond strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin: a preliminary study. *Lasers Med Sci*. 2011;26(2):187-91.

Baraba A, Dukić W, Chieffi N, Ferrari M, Anić I, Miletić I. Influence of different pulse duration of Er:YAG laser based on variable square pulse technology on microtensile

¹ De acordo com o Estilo Vancouver

bond strength of a self-etch adhesive to dentin. *Photomed Laser Surg.* 2013 Mar; 31(3):116-24.

Barceleiro Mde O, de Mello JB, de Mello GS, Dias KR, de Miranda MS, Sampaio Filho HR. Hybrid layer thickness and morphology: the influence of cavity preparation with Er:YAG laser. *Oper Dent.* 2005 May-Jun;30(3):304–10.

Bertassoni LE, Orgel JP, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry on the nanometer scale. *Acta Biomater.* 2012 Jul;8(7): 2419-33.

Bertrand MF, Semez G, Leforestier E, Muller-Bolla M, Nammour S, Rocca JP. Er:YAG laser cavity preparation and composite resin bonding with a single-component adhesive system: relationship between shear bond strength and microleakage. *Lasers Surg Med.* 2006 Jul;38(6):615–23.

Bertrand MF, Hessleyer D, Bolla MM, 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.

Black RB. Technique for non-mechanical preparation of cavities and prophylaxis. *J Am Dent Assoc.* 1945; 32: 955-65.

Burkes EJ, Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. *J Prosthet Dent.* 1992 Jun;67(6):847–51.

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

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

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

Cecchini RC, Zezell DM, Oliveira E, Freitas PM, and Eduardo Cde, P. Effect of Er:YAG laser on enamel acid resistance: morphological and atomic spectrometry analysis. *Lasers Surg Med.* 2005 Dec;37(5):366–72.

Celik EU, Ergucu Z, Turkun LS, Turkun M. Shear bond strength of different adhesives to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Adhes Dent*. 2006 Oct;8(5):319-25.

Chen ML, Ding JF, He YJ, Chen Y, Jiang QZ. Effect of pretreatment on Er:YAG laser-irradiated dentin. *Lasers Med Sci*. 2015 Feb;30(2):753-9.

Chousterman M, Heysselaer D, Dridi SM, Bayet F, Misset B, Lamard L, Peremans A, Nyssen-Behets C, Nammour S. Effect of acid etching duration on tensile bond strength of composite resin bonded to erbium:yttrium-aluminium-garnet laser-prepared dentine. Preliminary study. *Lasers Med Sci*. 2010 Nov;25(6):855-9.

Corona SAM, Souza AE, Chinelatti MA, Borsatto MC, Pecora JD, Palma-Dibb RG. Effect of energy and pulse repetition rate of Er:YAG laser on dentin ablation ability and morphological analysis of the laser-irradiated substrate. *Photomed Laser Surg*. 2007 Feb;25(1):26–33.

De Barceleiro MO, Dias KR, Sales HX, Silva BC, Barceleiro CG. SEM evaluation of the hybrid layer after cavity preparation with Er:YAG laser. *Oper Dent*. 2008 May-Jun;33(3):294-304.

Delfino CS, Souza-Zaroni WC, Corona SA, Palma-Dibb RG. Microtensile bond strength of composite resin to human enamel prepared using erbium: Yttrium aluminum garnet laser. *J Biomed Mater Res A*. 2007 Feb;80(2):475–9.

Dela Rosa A, Sarma AV, Le CQ, Jones RS, Fried D. Peripheral thermal and mechanical damage to dentin with microsecond and sub-microsecond 9.6 microm 2.79 microm, and 0.355 microm laser pulses. *Lasers Surg Med*. 2004;35(3):214–28.

De Moor RJ, Delmé KI. Laser-assisted cavity preparation and adhesion to Erbium-lased tooth structure: Part 1. Laser –assisted cavity preparation. *J Adhes Dent*. 2009 Dec;11(6):427-38.

Delme KI, Deman PJ, Nammour S, De Moor RJ. Microleakage of class V glass ionomer restorations after conventional and Er:YAG laser preparation. *Photomed Laser Surg*. 2006 Dec;24(6):715-22.

Delmé KI, De Moor RJ. Scanning electron microscopic evaluation of enamel and dentin surface after Er:YAG laser preparation and laser conditioning. *Photomed Laser Surg*. 2007 Oct; 25(5):393–401.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Er:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci* 2002 Aug; 110(4): 322–9.

Dostalova T, Jelinkova H, Kucerova H, Krejsa O, Hamal K, Kubelka J, Prochazka S. Noncontact Er: YAG laser ablation: Clinical evaluation. *J Clin Laser Med Surg*. 1998 Oct;16 (5):273-82.

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 Jul; 21(7):616–24.

Eberhard J, Eisenbeiss AK, Braun A, Hedderich J, Jepsen S. Evaluation of selective caries removal by a fluorescence feedback- controlled Er:YAG laser in vitro. *Caries Res*. 2005 Nov-Dec; 39(6):496–504.

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

Eversole LR, Rizoiu IM. Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium YSGG laser. *J Calif Dent Assoc*. 1995 Dec;23(12):41–7.

Firat, E., S. Gurgan, and N. Gutknecht, Microtensile bond strength of an etch-and-rinse adhesive to enamel and dentin after Er:YAG laser pretreatment with different pulse durations. *Lasers Med Sci*. 2012; 27(1):15-21.

Fowler BO, Kuroda. Changes in heated and in laser irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility .*Calcif Tissue Int*. 1986 Apr;8(4):197-208.

Fradera PE, Bote AS. El láser de erbio-YAG en la práctica odontológica general. *Quintessence* 1999; 12: 61–70.

Freitas PM, Navarro RS, Barros JA, Eduardo CP. The use of Er:YAG laser for cavity preparation: na SEM evaluation. *Microsc Res Tech*. 2007 Sep;70(9):803-8.

Fried D, Ashouri N, Breunig T, Shori R. Mechanism of water augmentation during IR laser ablation of dental enamel. *Lasers Surg Med* 2002;31(3):186–93.

Fried D, Ragadio J, Champion A. Residual heat deposition in dental enamel during IR laser ablation at 2.79, 2.94, 9.6 and 10.6 μm . *Lasers Surg Med*. 2001;29(3):221–9.

Gurgan S, Kiremitci A, Cakir FY, Yazici E, Gorucu J, Gutknecht N. Shear bond strength of composite bonded to erbium: yttrium-aluminum-garnet laser-prepared dentin. *Lasers Med Sci*. 2009 Jan;24(1):117–22.

Guven Y, Aktoren O. Shear bond strength and ultrastructural interface analysis of different adhesive systems to Er:YAG laser-prepared dentin. *Lasers Med Sci*. 2013 30(2):769–78.

Hibst, R, Keller, U. Heat effect of pulsed Er:YAG laser radiation. *Laser Surgery: Advanced characterization. Therapeut Systems Proc. SPIE* 1990;1200:379–86.

Hibst R, Wieshammer S, Steiner R. Er:YAG and excimer laser induced ablation of biologic tissue. A quantitative study. *Lasers Surg Med*. 1988; 8:144.

Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med*. 1989; 9(4):338–44.

Hibst R, Stock K, Gall R, Keller U. Controlled tooth surface heating and sterilization by Er:YAG laser radiation. In: Altshuler GB, Chiesa F, Geschwind HJ, Hibst R, Krasner N, Laffitte F, Maira G, Neumann R, Pini R, Reidenbach H, et al., editors. *In the Proceedings of SPIE. International Society for Optical Engineering Vol. 2922*. Vienna, Austria; 1996. p119–26.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Nakamura G, Matsumoto K. 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 Jun; 17(3):105– 9.

Hossain M, Yamada Y, Nakamura Y, Murakami Y, Tamaki Y, Matsumoto K. A study on surface roughness and microleakage test in cavities prepared by Er:YAG laser irradiation and etched bur cavities. *Lasers Med Sci*. 2003;18(1):25–31.

Husein A, Ngo H, McIntyre J, Abbot J. Ultrastructure of Er:YAG laser-treated human dentine. *J Oral Laser Appl*. 2006;6:95–9.

Ishizaka Y, Eguro T, Maeda T, Tanaka H. Effects of Er:YAG laser irradiation on human dentin: Polarizing microscopic, light microscopic and microradiographic observations, and FT-IR analysis. *Lasers Surg Med.* 2002;31(3):171– 6.

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. Die ablative Wirkung de Erbium:YAG Lasers an oral en Hart- u Weichgeweben. Habilitationsschrift Universitat Ulm;1989.

Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers Surg Med.* 1989;9(4):345– 51.

Keller U, Hibst R, Geurtsen W, Schilke R, Heidemann D, Klaiber B, Raab WH. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. *J Dent.* 1998 Nov;26(8):649–56.

Kohara EK, Hossain M, Kimura Y, Matsumoto K, Inoue M, Sasa R. Morphological and microleakage studies of cavities prepared by Er:YAG laser irradiation in primary teeth. *J Clin Laser Med Surg.* 2002 Jun;20(3):141–7.

Krmek SJ, Bogdan I, Simeon P, Mehičić GP, Katanec D, Anić I. A three – dimensional evaluation of microleakage of class V cavities prepared by the very short pulse mode of the erbium: yttrium-aluminium-garnet laser. *Laser Med Sci.* 2010 Nov;25(6):823- 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.

Lukac M, Marko M, Ladislav G. Super VSP Er:YAG pulses for fast and precise cavity preparation. *J Oral Laser Applic.* 2004;4:171–173.

Majaron B, Lukac M, Sustercic D, Funduk N, Skaleric U. Threshold and efficiency analysis in Er:YAG ablation of hard dental tissue. *Proc SPIE* 2922. 1996;233–242.

Manhães L, Oliveira DC, Marques MM, Matos AB. Influence of Er:YAG laser surface treatment and primer application methods on microtensile bond strength self-etching systems. *Photomed Laser Surg.* 2005 Jun 23(3):304–12.

Marshall GW Jr. Dentin: microstructure and characterization. Quintessence Int. 1993 Sep;24(9):606–17.

Marshall GW, Marchall SJ, Kinney JH, Balhooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. JDent. 1997 Nov;25(6):441-58.

Meister J, Franzen R, Fornerk K, Grebe H, Stanzel S, Lampert F, et al. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. J Biomed Opt. 2006;11(3):34030-7.

Mehl A, Folwaczny M, Haffner C, Hickel R. Bactericidal effects of 2.94 microns Er:YAG-laser radiation in dental root canals. J Endod. 1999 Jul;25(7):490–3.

Mehl A, Kremers L, Salzmann K, Hickel R. 3D Volume-ablation rate and thermal side effects with the Er:YAG and Nd:YAG laser. Dent Mater. 1997 Jul;13(4): 246–51.

Mercer CE, Anderson P, Davis GR. Sequential 3D X-ray microtomographic measurement of enamel and dentine ablation by an Er:YAG laser. Br Dent J. 2003 Jan 25;194(2):99–104.

Meurman JH, Voegel JC, Rauhamma-makinem R, Gasser P, Thomann JM, Hemmerle J, Loumane M, Paunio L, FrankRM. Effects of carbon dioxide, Nd:YAG combination lasers at high energy densities on synthetic hydroxiyapatite. Caries Res. 1992; 26(2):77-83.

Miserandino LJ, Pick RM 1995. Laser interaction with biological tissue In Miserandino LJ, Pick RM. Laser in dentistry. Chigado: Quintessence Publishing Co.;1995 .p.39.

Moretto SG, Azambuja N, Arana-Chavez VE, Reis AF, Giannini M, Eduardo CP, Freitas PM. Effects of ultramorphological changes on adhseion to lased dentin-scanning eléctron microscopy and transmission eléctron microscopy analysis. Microsc Res Tech. 2011;74(8):720-6.

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 Jun;14(3):133–6.

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Szakacs S, Sperr W, Schweidler E, Wernisch J, Gutknecht N. Procedures for enamel and dentin conditioning: A comparison of conventional and innovative methods. J Esthet Dent. 1998;10(2):84–93.

Nakabayashi N, Sami Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res.* 1996 Sep;75(9):1706–15.

Nishimoto Y, Otsuki M, Yamauti M, Eguchi T, Sato Y, Foxton RM, Tagami J. Effect of pulse duration of Er: YAG laser on dentin ablation. *Dent Mater J.* 2008 May;27(3):433-9.

Obeidi A, Liu PR, 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 May;25(3): 363–9.

Paghdwala AF, Vaidyanathan TK, Paghdwala MF. Evaluation of erbium:YAG laser radiation of hard dental tissues: analysis of temperature changes, depth of cuts, and structural effects. *Scanning Microsc.* 1993 Sep;7(3):989–97.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997 Sep; 25(5):355–72.

Ramos AC, Esteves-Oliveira M, Arana-Chavez VE, de Paula Eduardo C. 2010. Adhesives bonded to erbium:yttrium-aluminum-garnet laser-irradiated dentin: transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and tensile bond strength analyses. *Lasers Med Sci.* 2010 Mar;25(2):181–9.[Epub ahead of print]

Raucci-Neto W, De Castro LM, Corrêa –Afonso AM, Da Silva RS, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Assessment of thermal alteration during class V cavity preparation using the Er:YAG laser. *Photomed Laser Surg.* 2007Aug;25(4):281-6.

Raucci-Neto W, Chinelatti MA, Ito IY, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Influence of Er:YAG laser frequency on dentin caries removal capacity. *Microsc Res Tech.* 2011 Mar;74(3):281-6.

Sakakibara Y, Ishimaru K, Takamizu M. A study on bond strength to dentin irradiated by Erbium: YAG. *Jpn J Conservative Dent.* 1998;41: 207-19.

Samad-Zadeh A, Harsono M, Belikov A, Shatilova KV, Skripnik A, Stark P, Egles C, Kugel G. The influence of laser –textured dentinal surface on bond strength. *Dent Mater.* 2011Oct; 27(10):1038- 44.

Sassi JF, Chimello DT, Borsatto MC, Corona SA, Pecora JD, Palma-Dibb RG. Comparative study of the dentin/adhesive systems after treatment with Er:YAG laser

and acid etching using scanning electron microscope. *Lasers Surg Med.* 2004; 34(5):385-90.

Shigetani Y, Okamoto A, Abu-Bakr N, Iwaku M. A study of cavity preparation by Er: YAG laser — observation of hard tooth structures by laserscanning microscope and examination of the time necessary to remove caries. *Dent Mater J.* 2002 Mar; 21(1): 20-31.

Staninec M, Gardner AK, Le CQ, Sarma AV, Fried D. Adhesion of composite to enamel and dentin surfaces irradiated by IR laser pulses of 0.5–35 micros duration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006 Oct; 79(1):193–201.

Staninec M, Meshkijn N, Manesh SK, Ritchie RO, Fried D. Weakening of dentin from cracks resulting from laser irradiation. *Dent Mater.* 2009 Apr; 25(4):520-5.

Tanji EY, Matsumoto K, Eduardo CP. Scanning electron microscopic observations of dentin surface conditioned with the Er:YAG laser. *Deuts Gesellschaft Laser Newsletter.* 1997;8:6.

Tao L, Pashley DH. The relationship between dentin bond strengths and dentin permeability. *Dent Mater.* 1989 Mar; 5(2):133–9.

Tokonabe H, Kouji R, Watanabe H, Nakamura Y, Matsumoto K. Morphological changes of human teeth with Er:YAG laser irradiation. *J. Clin Laser Med Surg.* 1999 Feb; 17(1) 7-12.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res.* 1992; 71(8):1530-40.

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

Visuri SR, Walsh JT Jr, Wigdor HA. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers Surg Med.* 1996b; 18(3):294–300.

Yamada Y, Hossain M, Nakamura Y, Suzuki N, Matsumoto K. Comparison between the removal effect of mechanical, Nd:YAG, and Er:YAG laser systems in carious dentin. *J Clin Laser Med Surg.* 2001 Oct; 19(5):239–43.

Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965 Apr;19:515-30.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ANÁLISE DA DENTINA IRRADIADA PELO LASER ER:YAG (SUPER SHORT PULSE-SSP) COM DIFERENTES DURAÇÕES DE PULSO

Pesquisador: Livia Tosi Trevelin

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 26184014.0.0000.0075

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO CIENT E TEC ODONTOLOGIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 520.546

Data da Relatoria: 04/02/2014

Apresentação do Projeto:

Nesta pesquisa, "ANÁLISE DA DENTINA IRRADIADA PELO LASER ER:YAG (SUPER SHORT PULSE-SSP) COM DIFERENTES DURAÇÕES DE PULSO", os pesquisadores relatam que a dentística restauradora se preocupa cada vez mais com os procedimentos restauradores adesivos e, nos novos sistemas adesivos, a preservação das estruturas de colágeno de dentina é de suma importância. Em vista disso eles, nesse projeto, procuram ver a viabilidade da aplicação do laser em procedimentos adesivos, estudando a manutenção da rede de colágeno da dentina após a sua aplicação.

Objetivo da Pesquisa:

Neste estudo o objetivo é, preparando cavidades em dentes humanos extraídos, avaliar as características ultra-estruturais e morfológicas (análise de microscopia eletrônica de varredura MEV, e microscopia eletrônica de transmissão TEM) das fibras colágenas irradiadas com laser Er:YAG, utilizando diferentes parâmetros de pulsos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há risco envolvido uma vez que o estudo será realizado em dentes cedidos pelo Banco de Dentes da FO da Universidade de São Paulo. Os riscos aos pesquisadores que trabalharão com laser é previsto nos protocolos de materiais e métodos.

Quanto aos benefícios, estes são indiretos, pois podem contribuir para o uso da tecnologia de

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 520.546

laser em procedimentos adesivos em dentística

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está adequada, não há nada que possa ferir a ética em pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatórios: folha de rosto, carta de doação dos dentes pelo Banco de Dentes da FOUSP e projeto na íntegra estão adequados. A justificativa de dispensa do TCLE está adequada.

Recomendações:

Não há recomendações aos pesquisadores, apenas que tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo que se aprove o projeto, pois não há pendências ou inadequações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 04 de Fevereiro de 2014

Assinador por:

Maria Gabriela Haye Blazevio
(Coordenador)

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br