MARINA STELLA BELLO SILVA

**Análise morfológica e da resistência adesiva dos tecidos dentais duros
irradiados com lasers de pulsos ultracurtos**

São Paulo

2010

MARINA STELLA BELLO SILVA

**Análise morfológica e da resistência adesiva dos tecidos dentais duros
irradiados com lasers de pulsos ultracurtos**

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

São Paulo

2010

Bello-Silva MS. Análise morfológica e da resistência adesiva dos tecidos dentais duros irradiados com lasers de pulsos ultracurtos. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: / /2010

Banca Examinadora

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

A Deus, por iluminar meu caminho e fazê-lo uma experiência
repleta de alegrias e felicidade.

Aos meus pais, Vera e Adelino, pelo apoio, incentivo e proteção em todos os
momentos da minha vida, por sua profunda devoção e amor incondicional. Sou
eternamente grata por sua dedicação, e extremamente orgulhosa por ser sua filha.

Às minhas irmãs e amigas, Thaís e Livia, com quem sempre pude contar, por
estarem sempre presentes e me encherem de orgulho todos os dias.

À Paula, cujo amor e dedicação nos une mais intensa e profundamente que
qualquer laço sanguíneo.

A todos os meus familiares e amigos, por darem o real sentido à minha vida,
especialmente à Maria Rita Fernandes Buainain, minha melhor amiga, cuja força e
alegria de viver me ensinaram o verdadeiro significado da fé.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, meu orientador, por representar a mais completa união entre generosidade, sabedoria, dedicação, competência, integridade e amor à profissão. É uma honra poder fazer parte da sua equipe, e poder desfrutar da constante superação pessoal e profissional que o convívio com você proporciona. Sou extremamente grata por todas as oportunidades, aprendizado, conselhos, apoio e orientação, e por você viabilizar esta importante conquista na minha vida. Pela sua amizade, confiança e intensa dedicação a mim, minha eterna gratidão e admiração.

Ao **Prof. Dr. Friedrich Lampert**, por confiar-me esta oportunidade única de ser sua aluna de Doutorado na Universidade de Aachen. Por estar sempre disponível e me apoiar em todos os momentos que precisei de sua orientação. Por todos os seus esforços para viabilizar a Cotutela, por sua dedicação e preocupação com cada detalhe das minhas atividades diárias no Hospital Universitário, por me motivar e amparar em todos os obstáculos pessoais e profissionais que enfrentei durante a minha permanência em Aachen, ou mesmo antes da minha chegada à Alemanha. Minha sincera gratidão a você e à sua família.

AGRADECIMENTOS

Dr.-Ing. Martin Wehner, por todos os seus esforços para permitir a realização deste estudo. Por participar de cada irradiação, sugerir os parâmetros do laser e ajudar no desenvolvimento dos métodos experimentais. Por todas as conversas e discussões enriquecedoras no Centro de Laser do Instituto Fraunhofer em Aachen (ILT), por avaliar e explicar os resultados obtidos neste estudo, por sua imensurável dedicação e por todo o aprendizado que me proporcionou.

À **Profa. Dra. Patricia Moreira de Freitas**, pela amizade inestimável, pelo carinho com que me ajudou em cada momento dessa jornada, em cada pedido de socorro, em cada obstáculo encontrado. Minha profunda gratidão por todos os momentos dedicados à correção de relatórios, solicitações e projetos, mas principalmente, por todos os momentos inesquecíveis que passamos nesses vários anos de convivência e amizade.

À **Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha**, pela profunda amizade, pela prontidão com que me socorreu e orientou todas as vezes que precisei de ajuda, desde o início do estágio no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO). Por todas as conversas, por sempre me fazer ver o lado positivo das coisas. Pelo carinho, atenção, dedicação e amizade, por todos os momentos inesquecíveis em todos esses anos de amizade.

À **Profa. Dra. Márcia Martins Marques**, Ex-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística, por todos os conselhos e orientações desde o início das minhas atividades de pesquisa. Pelo carinho e pela maneira como me recebeu desde a época da Graduação, e como acreditou na minha capacidade e me incentivou a ingressar na Pós-Graduação.

À **Profa. Dra. Miriam Lacalle Turbino**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística, por sua dedicação aos alunos e, principalmente, por sua disposição e incentivo, por todas as palavras de motivação, por todo o seu esforço

para viabilizar a condução dos experimentos. Sua colaboração foi imprescindível para a conclusão deste projeto.

Aos queridos Professores do Departamento de Dentística, pelo aprendizado e convívio durante todos esses anos de Pós-Graduação. Meu especial agradecimento à **Profa. Dra. Adriana Bona Matos**, por todas as conversas e orientações em muitos momentos da minha vida acadêmica e pessoal.

Ao **Prof. Dr. Victor Elias Arana-Chavez**, pelas inúmeras vezes que colocou meus pedidos de ajuda acima de suas prioridades, pela paciência, dedicação, por todo o aprendizado que me proporcionou desde o meu primeiro ano de faculdade, pelas horas dedicadas à obtenção das eletromicrografias.

À **Profa. Dra. Marcella Esteves Oliveira**, pelos inúmeros momentos em que me apoiou e amparou em Aachen, pela ajuda na condução do processo de Cotutela, pelas dicas e orientações.

Às técnicas **Patricia Buttler-Bücher** (Universidade de Aachen) e **Soninha** (Departamento de Dentística da FOU SP), pela paciência e orientação. A todos os funcionários da ZPP (Aachen) e do Departamento de Dentística da FOU SP, em especial ao **David, Ana, Selma e Aldo**, pela constante ajuda e orientação.

Ao **Sr. Franz Jungwirth** (Universidade de Aachen), por não poupar esforços para me ajudar no ensaio de microtração, e ao **Prof. Dr. Horst Fischer**, pela colaboração e autorização ao uso de laboratórios e equipamentos em horários extraordinários.

Ao **Prof. Dr. Ralf-Dieter Hilgers, Sabine Meisen e Miriam Tamm**, pela análise estatística deste estudo.

Aos colegas do Centro de Laser do Instituto Fraunhofer (ILT), em Aachen, pela enriquecedora troca de experiências. À **Silvia Kämpgen**, pela dedicação na obtenção das micrografias. Ao **Martin Hermans, Andreas Dohrn e Stefan Eifel**, pela irradiação das amostras com os lasers de pulsos ultracurtos e pela enorme paciência.

Aos funcionários da Pós-Graduação e do Setor de Convênios da FOU SP, da Pró-Reitoria de Pós-Graduação da USP, e da Reitoria da Universidade de Aachen, pela colaboração e pelo esforço para a concretização da Cotutela: **Stephan Dahm** (RWTH), **Maria Izabel Cavalcante da Silva** (USP), **Alessandra Moreira de Lima** (FOUSP), **Cátia Tiezzi dos Santos** (FOUSP) e **Graziela Fernandes de Castro Malagutti** (FOUSP).

Aos professores e funcionários do Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP, pelo auxílio e esforço extra para a aprovação do projeto de pesquisa junto à CONEP: **Prof. Dr. Dalton Luiz de Paula Ramos**, **Profa. Dra. Márcia Turolla Wanderley**, **Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz**, **Mirtes Regina M. F. Staduto** e **Edson Vicente**.

Às funcionárias da Pós-Graduação da FOU SP, pela orientação e colaboração desde o início: **Alessandra Moreira de Lima**, **Cátia Tiezzi dos Santos** e **Nair Hatsuko Tanaka Costa**.

À bibliotecária **Glauci Elaine Fidelis**, pela pronta revisão da formatação desta obra.

Ao **Prof. Dr. Moacyr Novelli**, pela orientação e pelo carinho, por ter acompanhado cada momento da minha formação, do meu ingresso na FOU SP à conclusão da Pós-Graduação.

Ao **Prof. Dr. Marco Antônio Paupério Georgetti**, que por detrás do papel de Professor de Periodontia, me ensinou o que é Odontologia em toda a sua integridade. Pelo seu respeito aos pacientes e alunos, pelo seu amor à Odontologia, pela sua amizade e pelos inesquecíveis momentos com a turma de Santos.

Aos queridos amigos do LELO, minha imensa gratidão. À **Sheila Gouw**, **Luciane Azevedo**, **Cláudia Strefezza**, **José Eduardo Pelino**, **Edgard Tanji** e **José Tannous**, por todos os ensinamentos. Às minhas amigas **Profa. Dra. Alyne Simões**, **Leila Soares Ferreira** e **Juliana Marotti**, por fazerem parte ativamente da minha vida, por crescerem e aprenderem desde o começo ao meu lado e dividirem comigo todas as conquistas, felicidades e realizações. Aos queridos **Cida**, **Liliane**,

Joelma, Haroldo, Eugênia (Ge), por todo o carinho com que me ajudaram sempre que precisei.

Ao **Prof. Dr. José Luiz Lage-Marques**, com quem dei meus primeiros passos na Pesquisa, muito obrigada pelos ensinamentos e pelo apoio desde a época da Iniciação Científica.

À amiga **Simone Gonçalves Moretto**, por dividir comigo não somente as horas de laboratório e a rotina da Pós-Graduação, mas também todos os bons e maus momentos da minha vida. Si, muito obrigada por ter me ajudado a cada passo dessa caminhada. Obrigada pelas viagens, pelas conversas. Com você aprendi, além de importantes passos da parte experimental da minha tese, a encarar os obstáculos de frente e, principalmente, a rir deles quando nos fizerem tropeçar.

À amiga **Karen Müller Ramalho**, pela atenção e dedicação com que me ajudou todas as vezes que precisei, tanto na Alemanha como no Brasil. Por todos os bons momentos em Aachen, por sua companhia nas intermináveis horas de laboratório, por sua amizade.

Ao amigo **José Antonio Fonseca dos Santos Jr. (Zé)**, pela dedicada doação de dentes e por me incentivar sempre. Ao amigo **Cassius Farina**, pela enorme colaboração na doação de dentes e pelo esforço para viabilizar a entrega destes, mesmo estando em Itatiba.

Ao amigo **Cacio de Moura Netto**, pelas horas dedicadas e pela inestimável ajuda na produção das imagens para a tese em português.

A todos os **amigos da Pós-Graduação**, por tornarem meus dias de doutoranda extremamente especiais, por toda a força e companheirismo.

A todos os meus amigos de Aachen, por me fazerem sentir acolhida e bem-vinda, e contribuírem para que esta fosse a experiência mais incrível e inesquecível da minha vida: **Renata Cordeiro Teixeira, Família Sachsenhausen (Roswitha, Hans, Boris, Nadja, Opa e Oma), Monique, Hasan e Carlo**.

A todos os meus amigos do Brasil, aos novos e antigos, aos mais presentes e aos mais distantes. Cada um de vocês contribuiu de um jeito peculiar para que eu encontrasse força e motivação por serem tudo o que tenho de mais precioso, o principal motivo para tudo valer a pena: **Amigos de Mileto, Turminha, Basquete, Atlética e Firma.**

Ao **Christoph Sachsenhausen**, por fazer meus dias em Aachen os mais felizes e completos da minha vida. Pela sua compreensão em todos os momentos de dificuldade e estresse, por todas as madrugadas e feriados ao meu lado no laboratório. Jamais conseguirei expressar o quanto você foi essencial para a conclusão deste projeto e, principalmente, para essa importante fase da minha vida.

À **Faculdade de Odontologia da USP**, minha Escola, onde vivo intensamente cada dia da minha história.

Meus especiais agradecimentos ao ***Deutscher Akademischer Austausch Dienst (DAAD)*** e à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa de Estágio de Doutorado no Exterior (BEX3095/08-8), e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela bolsa de Doutorado Direto concedida e reativada (2008/00668-3).

*“Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco;
à medida que vamos adquirindo conhecimentos,
instala-se a dúvida.”*

Johann Wolfgang von Goethe

RESUMO

Bello-Silva MS. Análise morfológica e da resistência adesiva dos tecidos dentais duros irradiados com lasers de pulsos ultracurtos [Tese de Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

O desenvolvimento da Odontologia Restauradora culminou com a era das restaurações estéticas adesivas e da intervenção minimamente invasiva, para as quais técnicas inovadoras e materiais de última geração vêm sendo constantemente introduzidos. As técnicas conservadoras visam não somente a remoção do substrato dental cariado, mas também o preparo das paredes da cavidade para a realização da restauração adesiva. Este estudo visou avaliar a possibilidade de introdução dos lasers de pulsos ultracurtos na Odontologia Restauradora, com o intuito de suprir os requisitos básicos para a realização de uma restauração conservadora adequada. A intenção foi de manter os benefícios já conhecidos relacionados à remoção seletiva de cárie com os lasers de alta potência, bem como superar as desvantagens relacionadas às fontes lasers atualmente disponíveis para este fim, como aumento excessivo de temperatura e adesão prejudicada da superfície irradiada à resina composta. Para a melhor avaliação da interação entre os lasers de pulsos ultracurtos e o substrato dental, os experimentos foram realizados em três fases. A Fase 1 visou avaliar o efeito de diferentes comprimentos de onda (355 nm, 532 nm, 1045 nm e 1064 nm), durações de pulso (pico e femtossegundos) e protocolos de irradiação (velocidade de escaneamento da superfície, espessura do espécime, método de refrigeração e taxa de repetição de pulso) em esmalte e dentina. Para a Fase 2, os parâmetros de irradiação que apresentaram resultados mais favoráveis na Fase 1 foram analisados para relacionar o aumento de temperatura com a taxa de ablação e a eficiência de ablação para cada parâmetro. A Fase 3 teve como objetivo analisar a interface adesiva e os valores de microtração da dentina irradiada com os parâmetros selecionados e estudados na Fase 2, utilizando sistemas adesivos do tipo “condicione e lave” e autocondicionante com diferentes protocolos de adesão (Clearfil SE Bond com e sem Primer, Adper Single Bond com e sem condicionamento ácido). Os resultados obtidos na Fase 1 indicam que a dentina e o esmalte irradiados com lasers de femtossegundos de 1045 nm e picossegundos de

1064 nm apresentam superfície rugosa livre de carbonização. Os protocolos de irradiação selecionados mostram que a irradiação deve ser conduzida com maior velocidade de escaneamento da superfície, e não há necessidade de refrigeração durante a irradiação. Todos os parâmetros utilizados promoveram ablação seletiva do substrato dental, e apresentaram maior taxa de ablação para dentina que para esmalte. A Fase 2 permitiu observar que todos os parâmetros de irradiação selecionados não provocaram aumento de temperatura maior que 6,1 °C para esmalte e 4,6 °C para dentina, quando o aumento de temperatura foi aferido no lado oposto ao irradiado, em espécimes de 1 mm de espessura e sem refrigeração. Exceção foi observada para a maior potência do laser de picossegundos, para a qual a temperatura aumentou até 12 °C em esmalte e 15 °C em dentina. Os valores obtidos no ensaio de microtração variaram de acordo com os parâmetros de irradiação e o sistema adesivo. A adesão à dentina irradiada com lasers de pulsos ultracurtos apresentou valores de resistência adesiva semelhantes ou significativamente maiores que os obtidos nos grupos controle, para todos os parâmetros de irradiação selecionados. Os resultados obtidos neste estudo indicam que os lasers de pulsos ultracurtos apresentaram resultados favoráveis para o preparo cavitário em esmalte e dentina em relação à morfologia produzida na superfície e ao aumento de temperatura provocado durante a irradiação. A resistência adesiva à dentina irradiada foi semelhante, ou mesmo significativamente maior que a obtida nos grupos controle. Portanto, os lasers de pulsos ultracurtos são considerados uma técnica promissora para a realização de intervenção minimamente invasiva com lasers de alta potência.

Palavras-chave: Dentina. Esmalte. Lasers de alta potência. Pulsos ultracurtos. Picossegundos. Femtossegundos. Microscopia eletrônica de varredura. Resistência adesiva. Microtração.

ABSTRACT

Bello-Silva MS. Evaluation of dental hard tissues irradiated with ultra-short pulsed lasers. Influence on surface morphology and microtensile bond strength [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

The development of restorative dentistry has reached the era of esthetic adhesive restorations and minimally invasive approach, for which innovative techniques and advanced materials are constantly introduced. Conservative techniques aim not only to remove carious dental substrate, but also to prepare cavity surfaces for adhesive restoration. The main objective of this study was to evaluate the possibility of introducing ultra-short pulsed lasers in Restorative Dentistry, in attempt to fulfill the basic requirements of adequate conservative restoration, by maintaining the well-known benefits of lasers for caries removal, but also overcoming disadvantages related to current laser sources available for this purpose, such as temperature increase and damaged adhesion to resin composite. In order to better evaluate the interaction between ultra-short pulsed lasers and dental substrates, experimental procedures were divided in three phases. Phase 1 aimed to evaluate the effect of different wavelengths (355 nm, 532 nm, 1,045 nm, and 1,064 nm), pulse durations (pico and femtoseconds) and irradiation protocols (surface scanning speed, sample thickness, cooling method, pulse repetition rate) on enamel and dentin. For Phase 2, laser parameters with most favorable results in Phase 1 were evaluated to relate temperature increase to ablation rate or ablation efficiency. Phase 3 aimed to analyze adhesive interface and microtensile bond strength to dentin irradiated with the selected parameters by using etch-and-rinse and self-etch adhesive systems with different bonding protocols (Clearfil SE Bond with and without Primer, Adper Single Bond with and without acid etching). The results of Phase 1 indicate that dentin and enamel irradiated with 1,045-nm fs-laser and 1,064-nm ps-laser present a rough surface without carbonization. Irradiation should be conducted with higher scanning speed, and no additional cooling during irradiation was necessary. All parameters provided selective tissue ablation, with higher ablations rate for dentin than enamel. Phase 2 indicated that all parameters tested provoked temperature increase of up to 6.1 °C for enamel and 4.6 °C for dentin, when temperature increase was measured at

the back side of 1-mm thick samples without cooling during irradiation, except for higher power for ps-laser, for which temperature increased up to 12 °C for enamel and 15 °C for dentin. Microtensile bond strength values varied according to laser parameters and adhesive systems used. Adhesion to dentin irradiated with ultra-short pulsed lasers resulted in similar or significantly higher bond strength values than control groups, for all laser parameters analyzed. Based on the results of this study, ultra-short pulsed lasers presented favorable results for cavity preparation in dentin and enamel regarding surface morphology and temperature increase. Adhesion to irradiated dentin was either similar or superior to traditional techniques. Thus, ultra-short pulsed lasers are considered a promising technique for the promotion of laser-supported minimally invasive approach.

Keywords: Dentin. Enamel. High-power lasers. Ultra-short pulses. Picoseconds. Femtoseconds. Scanning electron microscopy. Bond strength. Microtensile testing.

ZUSAMMENFASSUNG

Bello-Silva MS. Einfluss von Pulslänge auf Morphologie und adhäsiven Widerstand von Dentin und Zahnschmelz bei Abtragung durch Ultrakurzpuls-Laser [These]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

Die restaurative Zahnheilkunde ist in die Ära der ästhetischen adhäsiven Restauration und des minimalinvasiven Ansatzes vorgedrungen und neue innovative Techniken und fortschrittliche Materialien werden ständig vorgestellt. Konservative Methoden zielen nicht nur darauf ab kariöses Zahnsubstrat zu entfernen, sondern auch Kavitätsflächen zur Adhäsivrestauration vorzubereiten. Das Hauptziel dieser Studie war, die Möglichkeit der Einführung von Ultrakurzpuls-Lasern in die restaurative Zahnheilkunde zu bewerten, beim Versuch die grundlegenden Anforderungen an eine ausreichend konservative Restaurierung zu erfüllen, nicht nur unter Beibehaltung der bekannten Vorteile von Lasern für die Kariesentfernung, sondern auch zur Überwindung der Nachteile im Zusammenhang mit derzeitigen Laserquellen für diese Anwendung, wie z.B. Temperaturerhöhung und beschädigte Kompositadhäsion. Zur besseren Beurteilung der Wechselwirkung zwischen Ultrakurzpuls-Lasern und zahnärztlichen Substraten, wurden die experimentellen Verfahren in drei Phasen unterteilt. Phase 1 sollte die Auswirkung der verschiedenen Wellenlängen (355 nm, 532 nm, 1045 nm und 1064 nm), Pulsdauer (Piko- und Femtosekunden) und Bestrahlungsprotokolle (Scan-Geschwindigkeit, Probendicke, Kühlung, Pulswiederholungsrate) auf Schmelz und Dentin bewerten. Für Phase 2 wurden die Laserparameter mit den vielversprechendsten Ergebnissen in Phase 1 ausgewertet, bezogen auf Temperaturerhöhung, Abtragsrate oder Abtragseffizienz. Phase 3 zielte darauf ab die Adhäsivschnittstelle und Abzugsfestigkeit des mit den ausgewählten Parametern bestrahltem Dentin unter Einsatz von „Etch-and-Rinse“ und „Self-Etch“-Adhäsivsystemen mit unterschiedlichen Bonding-Protokollen (Clearfil SE Bond mit und ohne Primer, Adper Single Bond mit und ohne Säureätzung). Die Ergebnisse der Phase 1 zeigen, dass mit 1045-nm fs-Laser und 1064-nm ps-Laser bestrahltes Dentin und Schmelz eine raue, unverbrannte Oberfläche aufweisen. Die Bestrahlung sollte mit hoher Scan-Geschwindigkeit ohne zusätzliche Kühlung durchgeführt werden. Alle Parameterkonfigurationen ermöglichten selektive

Gewebeablation, bei höherer Ablation für Dentin als für Schmelz. Phase 2 zeigte, dass alle getesteten Parameter einen Temperaturanstieg von bis zu 6,1 °C für Schmelz und 4,6 °C für Dentin auslösen, wenn die Temperaturerhöhung auf der Rückseite einer 1 mm dicken Proben während der ungekühlten Bestrahlung gemessen wurde, mit Ausnahme von Hochleistungs-ps-Lasern, für die sich die Temperatur bis zu 12 °C für Schmelz und 15 °C für Dentin erhöhte. Die Werte für die Abzugsfestigkeit variierten je nach Laserparameter und verwendetem Adhäsiv. Für alle untersuchten Laserparameter führte die Bestrahlung mit Ultrakurzpuls-Lasern zu ähnlichen oder deutlich höheren Festigkeitswerten bei der Adhäsion zu Dentin als die Kontrollgruppen. Die Ergebnisse dieser Studie zugrundeliegenden, bieten Ultrakurzpuls-Laser positive Ergebnisse für die Kavitätenpräparation in Dentin und Schmelz bezüglich Oberflächenmorphologie und Temperaturerhöhung. Die Adhäsion am bestrahlten Dentin war entweder ähnlich oder besser als bei traditionellen Techniken. Somit sind Ultrakurzpuls-Laser als eine vielversprechende Technik zur Förderung des laserunterstützten minimalinvasiven Ansatz zu betrachten.

Schlüsselwörter: Dentin. Zahnschmelz. Hochleistungslaser. Ultra-kurze Pulse. Pikosekunden. Femtosekunden. Rasterelektronenmikroskopie. Haftfestigkeit. Abzugsversuche.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

10-MDP	10-metacriloiloxidecil diidrogeno fosfato
HEMA	2-hidroxietil metacrilato
SB+A	Adper Single Bond com condicionamento ácido
SB-A	Adper Single Bond sem condicionamento ácido
bis-GMA	bisfenol glicidil metacrilato
CL+P	Clearfil SE Bond com Primer
CL-P	Clearfil SE Bond sem Primer
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
DP	desvio padrão
SHG	geração de segundo harmônico
THG	geração de terceiro harmônico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
UV	ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

Er:YAG	érbio: ítrio, alumínio, granada
Er,Cr:YSGG	érbio, cromo: ítrio, escândio, gálio, granada
μs	microsegundo
s	segundo
ns	nanossegundo
ps	picossegundo
fs	femtossegundo
%	porcentagem
MPa	megapascal
mm^2	milímetro quadrado
μm	micrometro
pH	potencial hidrogeniônico
°C	grau Celsius
mm	milímetro
#	número
nm	nanometro
Nd:YAG	neodímio: ítrio, alumínio, granada
λ	lambda (Comprimento de onda)
W	watt (Potência)
mm/s	milímetro por segundo
kHz	quilo-hertz
MHz	mega-hertz
J	joule (Energia)
$\mu\text{J}/\text{pulso}$	microjoule por pulso
J/cm^2	joule por centímetro quadrado (Fluência ou Densidade de energia)
mL/min	mililitro por minuto
M	concentração molar
mm^3/J	milímetro cúbico por joule (Eficiência de ablação)
n	número total de espécimes
mW/cm^2	miliwatt por centímetro quadrado (Intensidade)
m/min	metro por minuto

N	newton (Força)
mm/min	milímetro por minuto
≤	menor ou igual
μm/pulso	micrometro por pulso (Taxa de ablação)
>	maior
<	menor

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	23
3 PROPOSIÇÃO	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
5 RESULTADOS	56
6 DISCUSSÃO	93
7 CONCLUSÕES	106
REFERÊNCIAS	107
ANEXOS	118

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por restaurações estéticas ao longo dos últimos anos tem sido associado aos conceitos imperativos de intervenção conservadora como a causa para o desenvolvimento significativo da Odontologia Restauradora. A adesão ao substrato dental permite a realização de procedimentos minimamente invasivos e restaurações conservadoras, com selamento efetivo e duradouro dos tecidos duros dentais.

A adesão a um substrato vital e úmido como a dentina tem apresentado limitações, uma vez que a fase mineral do substrato deve ser total ou parcialmente removido e substituído por um adesivo, que deve permear a camada superficial rica em colágeno e, após a polimerização, formar a camada híbrida. Conseqüentemente, diferentes sistemas adesivos com estratégias peculiares de união foram introduzidos na tentativa de superar esses obstáculos.

Paralelamente ao desenvolvimento dos materiais dentários, os conceitos de intervenção minimamente invasiva têm revolucionado a abordagem do tratamento de cárie com novas técnicas que garantam a remoção seletiva do tecido comprometido, com preservação da estrutura dental saudável. Neste contexto, a ablação dos tecidos dentais duros com laser vem atraindo diversos pesquisadores, por se tratar de um procedimento seguro, que reduz a sensação dolorosa e proporciona um tratamento mais confortável para os pacientes através da redução significativa de ruídos e vibrações.

A interação adequada dos lasers com o tecido duro dental pode resultar na remoção eficiente e segura da estrutura comprometida, e esta condição é alcançada quando os danos térmicos e mecânicos e as características superficiais obtidas na irradiação são rigorosamente levadas em conta.

Os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG vem sendo amplamente estudados devido à sua afinidade com os tecidos dentais duros, e são atualmente as fontes de laser mais utilizadas para remoção de cárie na prática odontológica. Em esmalte, a ablação produz microporosidades, resultando na criação de um padrão de microrretenção que favorece a realização de restaurações adesivas. Em dentina, a análise microscópica das superfícies irradiadas tem mostrado um substrato rugoso, sem a presença de *smear layer*, com túbulos dentinários abertos e dentina

peritubular proeminente. Alterações no conteúdo mineral e orgânico foram relacionados e, provavelmente, desempenham um papel importante no processo de união ao esmalte e à dentina. Além disso, alguns autores sugerem que os efeitos termomecânicos produzidos pela irradiação com lasers de érbio podem ser estendidos para a dentina adjacente subsuperficial, desnaturando as fibrilas colágenas e, conseqüentemente, prejudicando a retenção micromecânica produzida pela infiltração do sistema adesivo por esta rede de fibrilas expostas.

Um considerável número de estudos na literatura investigou a qualidade de união a tecidos duros dentais irradiados com lasers de érbio com duração de pulso de microssegundos, e os resultados têm se mostrado contraditórios quando comparados aos substratos tratados pelas técnicas tradicionais de preparo cavitário com instrumentos rotatórios.

Recentemente, a influência da duração do pulso no processo de ablação tem sido cada vez mais investigada, e este fato resulta do desenvolvimento de equipamentos de laser de alta tecnologia, que permitem a seleção da duração de pulso na faixa dos microssegundos ($1 \mu s = 0,000001 s$), nanossegundos ($1 ns = 0,000000001 s$) e, ultimamente, picossegundos ($1 ps = 1.10^{-12} s$) e femtossegundos ($1 fs = 1.10^{-15} s$), os chamados laser de pulsos ultracurtos. Essas fontes incluem diferentes comprimentos de onda nas áreas do ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético.

Pulsos de alta potência com duração menor que o tempo de relaxamento térmico do tecido-alvo são indicados para evitar a denaturação térmica das áreas adjacentes às superfícies irradiadas. Durações de pulso mais longas são consideradas responsáveis pela indução de danos e estresse termomecânico ao tecido, já que eles permitem que a energia térmica acumule e penetre profundamente. Estudos avaliando a influência da duração de pulso no processo de ablação indicam não somente que a energia necessária para a ocorrência da ablação diminui, mas a melhora do processo de ablação é também observada devido à rápida evaporação do tecido irradiado. Este fato é atribuído à indução de dano térmico residual reduzido por causa da minimização da difusão do calor.

Poucos estudos na literatura avaliam o uso de lasers de pulsos ultracurtos para a ablação de tecidos dentais duros, e ainda há muito a ser esclarecido para que essa tecnologia se torne uma realidade clínica. Com base no exposto, considera-se importante avaliar a aplicabilidade dos lasers de pulsos ultracurtos em Odontologia

através da análise de aspectos fundamentais relacionados à interação do laser com o substrato dental, tais como a alteração da morfologia da superfície, o aumento da temperatura e a capacidade de realização de preparos cavitários. Igualmente, a avaliação dos aspectos clínicos envolvidos na introdução desta nova técnica também é necessária, e inclui as características da adesão da resina composta ao substrato irradiado e os protocolos de adesão a serem adotados quando restaurando essas superfícies peculiares produzidas pelo laser. Finalmente, a combinação de todos os aspectos básicos e clínicos deve ser determinada de maneira a reunir e integrar técnicas inovadoras e tratamento restaurador de qualidade.

Os aspectos relacionados à adesão das restaurações adesivas ao substrato dental irradiado serão abordados na Revisão de Literatura, e os sistemas adesivos contemporâneos e suas aplicações, o estado da arte do uso dos lasers de alta potência para o preparo cavitário em Odontologia e as características e indicações dos lasers de pulsos ultracurtos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A Odontologia moderna e seus conceitos de intervenção minimamente invasiva são apoiados pelo desenvolvimento de materiais inovadores e técnicas avançadas. O tratamento conservador tem como principal objetivo o selamento efetivo da cavidade preparada e a preservação de estruturas dentárias íntegras, e é resultado da associação de materiais adesivos à remoção seletiva de cárie.

Para uma melhor compreensão da dinâmica da interação entre materiais adesivos e técnicas restauradoras, a revisão da literatura será dividida em três tópicos. O primeiro tópico visa esclarecer a adesão ao substrato dental, bem como as características dos sistemas adesivos disponíveis para esta finalidade. Este tópico será seguido pela abordagem do método de remoção seletiva da cárie com lasers de alta potência e do estado da arte em relação às fontes de laser e adesão a substratos irradiados, com ênfase em dentina irradiada. O último tópico apresentará as características e aplicações dos laser de pulsos ultracurtos, e os estudos disponíveis na literatura sobre sua utilização em tecidos duros dentais.

2.1 ADESÃO AO ESMALTE E À DENTINA

A Odontologia Restauradora tem progredido de forma exponencial nas últimas décadas, e esse processo foi impulsionado pela crescente exigência por estética na prática diária da Odontologia, associada a inúmeros materiais restauradores e adesivos que são introduzidos constantemente. Não apenas os materiais avançaram, mas a própria odontologia evoluiu, graças às mudanças nos conceitos de restauração que guiaram aquela Odontologia da “extensão para prevenção” para a atual das intervenções minimamente invasivas.

Os princípios da Odontologia adesiva foram introduzidos por Buonocore (1), quando o autor condicionou o esmalte dental com ácido fosfórico e obteve um aumento significativo da adesão de resina acrílica a este substrato. Este procedimento foi baseado na técnica industrial de condicionamento de metal com

ácido fosfórico, que promove melhor aderência de tinta e materiais acrílicos à superfície tratada.

Posteriormente, sucessivas tentativas de unir eficientemente materiais resinosos à dentina falharam devido às limitações dos materiais restauradores, que eram facilmente destruídos em água, bem como à falta de conhecimento sobre as características específicas da complexa estrutura dentinária (2-4).

Em oposição à dentina, o esmalte dental sempre apresentou adesão eficiente de materiais resinosos. Esta adesão ao esmalte condicionado com ácido e o mecanismo pelo qual ela ocorre foram primeiramente descritos por Gwinnett e Matsui (5), e foram atribuídos à formação de *tags* de resina, que são capazes de penetrar nas microporosidades da superfície condicionada, proporcionando retenção micromecânica. Esta teoria foi confirmada por Buonocore (6), e é bem aceita até hoje.

Importantes avanços nos sistemas adesivos foram conseguidos através da inclusão do bisfenol-A glicidil metacrilato (Bis-GMA) e 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) à sua composição (7). No entanto, resultados satisfatórios em dentina foram observadas pela primeira vez no final dos anos 1970, quando Fusayama et al. (8) propuseram o condicionamento simultâneo de esmalte e dentina com ácido fosfórico a 40% por 60 segundos e introduziram um novo sistema adesivo (Clearfil Bond System-F, Kuraray Co., Osaka, Japão), que forneceu valores de tração de 10,9 MPa e 6,1 MPa para esmalte e dentina, respectivamente. Naquela época, o condicionamento ácido da dentina era evitado pelos clínicos, pois se acreditava que causasse irritação da polpa e favorecia a penetração de bactérias ou irritantes químicos através dos túbulos dentinários (9, 10). Este tópico foi contestada pelos autores, que defenderam o condicionamento seguro da dentina com ácido citando o estudo de Jennings e Ranly (11). Apesar dos maiores valores de adesão alcançados, a técnica proposta por Fusayama et al. causou um excesso de condicionamento da superfície dentinária, devido à ação prolongada de ácido fosfórico. Da mesma forma, o colapso das fibrilas colágenas através da secagem da dentina condicionada com ar evitou a penetração adequada do adesivo através da matriz de colágeno (12).

Este mecanismo de adesão à dentina foi primeiramente descrito por Nakabayashi, Kojima e Masuhara (13), que observaram a permeação do adesivo através da rede de colágeno da dentina exposta anteriormente pelo

condicionamento ácido. Os autores chamaram esta área intermediária de camada híbrida, e este termo é usado até hoje ao se mencionar a adesão da resina à dentina condicionada.

O mecanismo de imbricamento mecânico entre o adesivo e as microporosidades do esmalte condicionado é bem estabelecido, contrariamente à adesão à dentina condicionada, que ainda permanece inconvincente. Inúmeros estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a estrutura e a formação da camada híbrida, e diversos sistemas adesivos foram desenvolvidos na tentativa de superar as barreiras impostas pela complexidade e peculiaridade do substrato dentinário.

A previsibilidade da adesão obtida para o esmalte está relacionada à sua estrutura cristalina altamente mineralizada, que é facilmente condicionada por ácido, sem ter a sensibilidade da técnica na dentina. O esmalte dental humano é composto por cristais de hidroxiapatita inorgânicos (96%), água (3%) e matriz orgânica (1%). Em contraste ao esmalte, a dentina humana apresenta um elevado teor de matriz orgânica (30%), bem como de água (20%) e cristais de hidroxiapatita (50%) (14).

O substrato dentinário apresenta túbulos cercados por uma área peritubular mais mineralizada e preenchidos por fluido dentinário, que são distribuídos em uma matriz intertubular de cristais de apatita imersos em colágeno tipo 1 (14).

Quando submetida ao condicionamento ácido, a porção mineral da dentina é removida, resultando na exposição da rede de colágeno. Esta conformação da rede é mantida pela presença de água, que é posteriormente substituída pelos primers dos adesivos hidrófilos, e polimerizada para formar a camada híbrida (15, 16). Quando a água é removida pela secagem da dentina condicionada antes da aplicação do adesivo, esta rede de fibrilas colágenas perde suporte e colapsa, evitando a formação da camada híbrida (17). Portanto, os adesivos devem ser aplicados sobre a dentina condicionada úmida, de acordo com a técnica “wet bonding” introduzida por Kanca III em 1992 (18). No entanto, a dentina excessivamente úmida ou seca compromete a adesão, e esta condição da dentina idealmente úmida é difícil de ser definida clinicamente. Este fato é uma das principais razões por que a união à dentina é considerada, até hoje, crítica e sensível à técnica (19, 20).

Outros aspectos importantes relacionados ao substrato dentinário devem ser considerados ao se discutir adesão, como, por exemplo, a variabilidade morfológica

nas diferentes localidades da dentina. A quantidade e o diâmetro dos túbulos dentinários aumentam à medida que estes se aproximam da polpa. Em áreas mais profundas da dentina, os túbulos dentinários chegam a representar 28% de sua área total, com uma quantidade de 45000/mm² e cerca de 2,5 µm de diâmetro (21). Estas características são tão distintas, que o desempenho de um mesmo sistema adesivo varia nas diferentes áreas de um mesmo substrato dentinário (22). Além disso, a *smear layer* produzida na instrumentação e preparo da dentina e sua deposição na superfície também parece prejudicar a adesão, uma vez que oblitera túbulos dentinários e reduz significativamente a permeabilidade dentinária (23).

Como consequência do constante desenvolvimento dos sistemas adesivos, diversas classificações foram propostas nos últimos 10 anos, com o objetivo de simplificar o entendimento das diferentes técnicas de união disponíveis. Estas classificações incluem a divisão dos sistemas adesivos em gerações (12), número de etapas de aplicação (24) e estratégia de união (25). Porém, esta última fornece uma visão clara e esclarece melhor as peculiaridades dos sistemas disponíveis. A estratégia de adesão dos adesivos modernos são divididos em dois principais mecanismos (26).

Os sistemas “condicione e lave” consistem no condicionamento inicial da dentina e do esmalte com ácido fosfórico a 30-40% por 15-20 segundos, seguido por sua remoção com *spray* de ar e água. Este sistema pode ser apresentado tanto em aplicação convencional de três passos, quanto na técnica simplificada em dois passos. Nos adesivos convencionais de três passos, a remoção do ácido fosfórico é seguido pela aplicação de um adesivo hidrofílico em dentina úmida e, em seguida pela aplicação do adesivo hidrofóbico. Esta técnica é, até agora, a mais confiável para a adesão estável em esmalte (25). A técnica simplificada em dois passos do sistema “condicione e lave” também é precedida por condicionamento ácido e lavagem, e combina o primer e o adesivo na mesma aplicação, sendo, muitas vezes, referido como adesivo “condicione e lave” de frasco único (26, 27).

A necessidade de enxágue nos sistemas “condicione e lave” é responsável pela sensibilidade da técnica, visto que o substrato dentinário deve estar úmido durante os procedimentos adesivos, como mencionado anteriormente. A dentina excessivamente seca pode resultar no colapso das fibrilas colágenas expostas pelo ácido e, neste caso, os monômeros adesivos não serão capazes de permear

completamente a dentina condicionada, deixando áreas não hibridizadas, que resultam na redução expressiva dos valores de resistência adesiva (28).

O segundo principal mecanismo de adesão é o dos sistemas autocondicionantes. Estes adesivos contêm monômeros ácidos que são aplicados diretamente sobre a superfície dental não condicionada, e não são enxaguados posteriormente, excluindo a etapa de condicionamento prévio com ácido fosfórico (26). Esses monômeros condicionam e infiltram a dentina simultaneamente e, sem enxágüe, o adesivo livre de solvente é posteriormente aplicado. Essa técnica de dois passos reduz a duração e a sensibilidade dos procedimentos de adesão, uma vez que a lavagem do ácido e o risco de colapso do colágeno são eliminados. Assim, toda dentina condicionada é posteriormente hibridizada (27). Na aplicação dos sistemas autocondicionantes de um passo, os monômeros ácidos e o adesivo podem compor um único frasco (um componente), ou ser misturados e aplicados simultaneamente no substrato dental (dois componentes) (26). Este último tem proporcionado um condicionamento menos efetivo quando utilizado em esmalte, como de fato foi apresentado em alguns estudos avaliando a sua eficácia, nos quais os resultados se mostram controversos e inconsistentes (29, 30).

Os adesivos autocondicionantes também podem ser subdivididos de acordo com a força dos monômeros ácidos, já que os diferentes mecanismos de união estão relacionadas à sua capacidade de condicionamento. Monômeros autocondicionantes fortes ($\text{pH} < 1$) apresentam mecanismo de união e morfologia de interface semelhantes aos observados nos adesivos “condicione e lave”. Apesar de fortes, os primers autocondicionantes são diretamente neutralizados após a polimerização (31). Os adesivos autocondicionantes leves ($\text{pH} \sim 2$) somente desmineralizam parcialmente a estrutura dentinária (aproximadamente 1 μm de profundidade), que permanece com uma quantidade significativa de hidroxiapatita (32, 33). Portanto, a adesão é alcançada tanto pela hibridização da superfície quanto pela interação química entre carboxila/grupos fosfato dos monômeros funcionais e a hidroxiapatita residual (34).

A criação da subdivisão dos adesivos autocondicionantes ultraleves foi sugerida por Peumans et al. (35), que observaram a ausência de uma hibridização real da dentina ao usar o adesivo Clearfil S3 Bond (Kuraray Co.) com $\text{pH} 2,7$ em superfícies que apresentavam uma *smear layer* espessa. Nos casos em que a

smear layer foi previamente removida, o adesivo interagiu minimamente com a dentina, formando o que os autores chamaram de camada nanohíbrida.

Independentemente da estratégia de adesão adotada, a hibridização da dentina condicionada é indispensável para uma adesão eficaz e confiável da resina composta (24, 36). Adicionalmente, a formação de *tags* e ramificações laterais de adesivo otimizam a união por meio do selamento efetivo da entrada dos túbulos dentinários (37). Descrições detalhadas da camada híbrida indicam que sua espessura varia de acordo com o sistema adesivo utilizado, de aproximadamente 1 µm (sistemas autocondicionantes) a 5 µm (sistemas “condicione e lave”) (38-41). A camada híbrida mais delgada obtida com os sistema autocondicionantes tem mostrado altos valores de resistência adesiva, por vezes superiores a outros sistemas com camada híbrida mais espessa, excluindo, assim, a possibilidade de relação entre resistência de união e espessura de hibridização (42).

A eficácia clínica dos sistemas adesivos contemporâneos foi estudada por Peumans et al. (25), que realizaram uma revisão sistemática da literatura sobre o desempenho da união de restaurações adesivas em lesões não cariosas classe V. O estudo indicou que ambos os adesivos de três passos “condicione e lave” e os adesivos de dois passos autocondicionantes apresentaram melhores resultados e maior previsibilidade clínica, com taxas anuais de falha de 4,8% a 4,7%, respectivamente. Os adesivos “condicione e lave” de dois passos apresentaram desempenho clínico menos favorável, com taxa anual de insucesso de 6,2%, seguido pelos adesivos de passo único autocondicionantes, que alcançou uma taxa de falha anual de 8,1%. Os autores enfatizaram que a tendência de simplificar os procedimentos de aplicação possa ter induzido uma perda na eficácia clínica dos sistemas adesivos.

2.2 REMOÇÃO SELETIVA DE CÁRIE COM LASER DE ALTA POTÊNCIA

Juntamente ao desenvolvimento dos materiais dentários e estratégias de restauração, a evolução da Odontologia Restauradora foi igualmente suportada pela associação de importantes avanços tecnológicos aos conceitos tradicionais já bem-estabelecidos na literatura. A introdução de novas técnicas de remoção de tecido

cariado e de condicionamento da superfície associa procedimentos minimamente invasivos a intervenções confortáveis aos pacientes e resultados estéticos mais avançados (43). Estas técnicas incluem jateamento com óxido de alumínio, sono-abrasão, e os lasers de alta potência.

O uso de lasers de alta potência em Odontologia vem sendo estudado desde o desenvolvimento do primeiro laser de rubi por Theodore Maiman em 1960 (44). Estudos preliminares foram realizados em tecidos dentais duros com o objetivo de, eventualmente, substituir a peça de mão convencional de alta-rotação para a remoção de cárie. Stern e Sognnaes (1964) foram um dos primeiros a observar as alterações nos substratos dentais induzidos pela radiação laser, e descreveram que a superfície do esmalte apresentou-se derretido e com áreas de aspecto vítreo, enquanto a superfície da dentina apresentou cavidades delimitadas e carbonização intensa. A influência dos parâmetros e condições de irradiação laser sobre a interação entre a luz e tecidos-alvo já foi descrita, naquele momento, quando os autores mencionaram a importância de selecionar adequadamente a densidade de energia, o tempo de irradiação e a área do feixe.

Outros estudos foram conduzidos na mesma época para avaliar o efeito do laser de rubi nos tecidos dentais duros, no entanto, resultados desfavoráveis foram obtidos devido ao aumento excessivo de temperatura durante a irradiação (45-48). Este aumento da temperatura também foi responsável por causar alterações degenerativas na polpa dental de hamsters, como demonstrado por Taylor, Shklar e Roeber (1965). Os mesmos resultados decepcionantes foram observados quando o laser de rubi foi utilizado para o preparo de cavidades em dentes de cão *in vivo*. A densidade de energia necessária para produzir alterações no esmalte já foi suficiente para causar alterações irreversíveis na polpa, indicando que o laser era inadequado para remoção de tecido cariado (49).

Não foi até o final da década de 1980, quando Hibst e Keller (50) descreveram o uso de laser Er:YAG em tecidos dentais duros, que lasers de alta potência para a ablação dental apresentaram resultados favoráveis e promissores. A partir de então, os avanços nesta tecnologia introduziram novas fontes com diferentes comprimentos de onda, permitindo que estas fossem usadas com segurança e precisão para preparo cavitário e remoção de tecido cariado (50-52).

O laser de Er:YAG emite fótons a 2,94 μm , que coincidem com os picos de absorção da água e da hidroxiapatita e permitem a ablação eficaz do tecido duro

dental com efeitos mínimos sobre os tecidos adjacentes (50, 53-56). Quando a energia do laser é absorvida pela água presente no tecido alvo, ela é imediatamente transformada em calor, causando um súbito aumento de temperatura da água e sua imediata evaporação. O aumento da pressão proveniente da evaporação da água leva à microexplosão e ejeção dos tecidos irradiados, processo este chamado de fotoablação. Este processo termomecânico é responsável pela remoção de tecido e pelo condicionamento da superfície dental (50-52, 57).

Considerando que o teor de água do tecido-alvo tem influência sobre o processo de ablação, as estruturas cariadas são mais facilmente removidas quando comparadas às sadias, já que seu maior conteúdo de água resulta em melhor absorção de energia (58, 59). Essa seletividade para os tecidos cariados é uma das principais vantagens relacionadas ao uso dos lasers de érbio em Odontologia. Estas incluem também menor vibração ou sensação dolorosa durante a remoção de cárie e redução microbiana das estruturas dentais remanescentes (43, 51, 58-61).

A fim de reduzir os efeitos térmicos nocivos que podem decorrer da ablação dental, um sistema de refrigeração é frequentemente utilizado durante a irradiação com laser. O sistema mais comum é o *spray* de ar e água, que já está presente nos equipamentos de lasers de érbio comercialmente disponíveis para o uso clínico (54, 62, 63). Foi demonstrado que o laser de Er:YAG sem refrigeração é capaz de induzir um aumento de temperatura na polpa de até 27 °C (64), ao passo que o uso concomitante de *spray* de ar e água aumenta a temperatura até 2,2 °C apenas (65). Esses estudos indicam que o laser de Er:YAG com refrigeração aumenta a taxa de ablação e reduz o aumento de temperatura, e o preparo cavitário com laser nestas condições não possui efeitos nocivos na polpa, já que o aumento de temperatura permanece abaixo de 5,6 °C, que é o máximo tolerado pela polpa dental, segundo um estudo *in vivo* realizado por Zach e Cohen (66). Temperaturas mais altas podem provocar danos irreversíveis à polpa e comprometimento permanente da sua vitalidade.

Assim como o laser de Er:YAG, o laser de Er,Cr:YSGG emite fótons a 2,78 µm, e também é efetivamente absorvido pela água e íons hidroxila (OH) da hidroxiapatita (67). Deste modo, os tecidos dentais duros são eficientemente ablacionados por este comprimento de onda, sem a presença de danos térmicos às estruturas adjacentes (55, 68, 69). O processo de ablação que resulta da irradiação com laser de Er,Cr:YSGG é aumentado pelo sistema hidrocínético, no qual a água

do sistema de refrigeração forma uma fina película sobre a superfície dental, e quando a energia do laser é absorvida, as microexplosões provocam um forte impacto sobre a superfície irradiada, levando à sua ablação (68).

A influência do uso de *spray* de água concomitantemente à irradiação com laser Er, Cr: YSGG laser *in vitro* e *in vivo* foi estudada previamente, e demonstrou não somente um aumento na eficiência de ablação, mas também que a ocorrência de fusão e carbonização dos substratos irradiados são evitadas mesmo quando uma elevada potência de saída é utilizada (55). Além disso, não são observados danos térmicos à polpa ou tecidos adjacentes, e a morfologia da superfície produzida é similar ao laser de Er: YAG (70).

A irradiação do esmalte dental com os lasers de érbio produz um padrão morfológico característico resultante do processo de ablação. A topografia apresenta microporosidades que favorecem a microrretenção das restauração adesivas ao esmalte dental (52, 71).

As superfícies dentinárias irradiadas com lasers de Er: YAG e Er, Cr: YSGG apresentam aspecto rugoso, livre de fusão e carbonização, com túbulos dentinários abertos, ausência de *smear layer*, e dentina peritubular proeminente, devido ao maior teor orgânico da dentina intertubular e sua ablação mais intensa (51, 55, 72-76). Acredita-se que o laser de Er: YAG abre os túbulos dentinários especialmente através da interação com o material orgânico presente no interior dos túbulos. Este processo parece ocorrer anteriormente à interação do laser com a dentina peri e intertubular. Assim, os túbulos dentinários são primeiramente esvaziados, seguidos pela ablação da sua estrutura dentinária (54, 77). Microfissuras e microfragmentos também são observados nas superfícies dentinárias irradiadas com os lasers de érbio (75, 76).

Os efeitos dos lasers de érbio na superfície dentinária acabam por aprimorar os procedimentos tradicionais nas diferentes áreas da Odontologia. Como exemplo, a ampliação da entrada dos túbulos dentinários na superfície irradiada aumenta a permeabilidade da dentina durante o tratamento endodôntico. Este fato favorece a penetração de agentes antimicrobianos e medicamentos através da dentina intracanal, de maneira a permitir o seu acesso à superfície externa da raiz (78). Acredita-se que os padrões morfológicos produzidos pelo laser sejam capazes de favorecer os procedimentos adesivos, principalmente pela produção de uma superfície de microrretenção e pela ausência de *smear layer* (76, 79). Porém, o

aumento da temperatura provocado durante o processo de ablação é a principal preocupação em relação à sua aplicação clínica.

Quando os lasers de érbio são utilizados para preparo cavitário nos procedimentos restauradores, os efeitos termomecânicos e o aumento de temperatura excessivo causado pela ação do laser pode alcançar porções subjacentes à estrutura dentinária, ou mesmo denaturar fibrilas colágenas e, conseqüentemente, prejudicar a retenção micromecânica produzida pela infiltração do adesivo através da rede de fibrilas expostas (62, 77, 80-82). Assim, apesar do potencial uso dos lasers para a redução microbiana e remoção seletiva de tecido cariado, a adesão insatisfatória à superfície dentinária irradiada permanece sem solução. Estudos realizados com o objetivo de verificar a união à dentina irradiada dos adesivos “condicione e lave” ou autocondicionantes indicam que a superfície dentinária deve ser condicionada antes da aplicação dos sistemas adesivos. Dessa maneira, os procedimentos restauradores em dentina irradiada com laser não devem ser alterados, cumprindo os conceitos preconizados de adesão, que indicam o condicionamento da superfície previamente à aplicação do adesivo (79, 83). Embora resultados favoráveis sejam relatados para restaurações adesivas em superfícies irradiadas nestas condições, resultados desfavoráveis são igualmente relatados, e perpetuam a incerteza em relação à qualidade de união mesmo após condicionamento da superfície (56, 79).

Devido à mínima quantidade de matéria orgânica presente na composição estrutural do esmalte, o aumento de temperatura provocado pela irradiação com laser não é capaz de causar danos consideráveis ao substrato. Entretanto, os valores de união ao esmalte irradiado variam amplamente na literatura, e esse tema permanece, conseqüentemente, não concluído. Resultados favoráveis são relatados, e indicam valores de resistência adesiva semelhantes aos obtidos após o condicionamento tradicional da superfície com ácido fosfórico (84). O condicionamento do esmalte com laser de Er:YAG seguido de restauração com resina composta apresentou desempenho clínico favorável e duradouro, mesmo na presença de estresse oclusal excessivo. A restauração adesiva do esmalte condicionado com laser mostrou ser efetivo após um ano de acompanhamento clínico, de modo que as intensas cargas oclusais exercidas por um paciente bruxista foram suficientes para causar o desgaste da restauração em resina, mas não para destacá-la (85). Adversamente, valores de resistência adesiva reduzidos para

esmalte condicionado com laser também foram mostrados, contribuindo para a ausência de um consenso em relação a esse assunto (79).

A introdução dos lasers de érbio na Odontologia Restauradora é considerada uma possibilidade promissora para a remoção de tecido cariado e preparo cavitário. Porém, as alterações provocadas nos tecidos duros dentais irradiados devem ser contornados, a fim de que se alcance resultados confiáveis e com excelente durabilidade (54).

2.3 LASERS DE PULSOS ULTRACURTOS

É bem estabelecido na literatura que a ablação dental com lasers de alta potência devem ser realizados com lasers pulsados, de modo que o intervalo de tempo entre dois pulsos consecutivos permite a redução da temperatura na superfície irradiada e evita danos térmicos pelo calor excessivo (86, 87). A duração de pulso das fontes de laser atualmente disponíveis para preparo cavitário é da ordem de milissegundos, e mesmo quando o tempo de relaxamento térmico dos substratos dentais é respeitado, a temperatura residual ainda está presente e causa alterações indesejáveis nas estruturas subjacentes (54). Como previamente mencionado, essas alterações são responsáveis por reduzir os valores de resistência adesiva em superfícies irradiadas, e tais desvantagens culminaram com a contra-indicação do uso do laser para preparo cavitário por alguns autores (79, 88, 89).

A influência dos parâmetros de irradiação do laser sobre o processo de ablação é bem conhecido, e inúmeros estudos vêm sendo realizados para a determinação adequada do comprimento de onda, taxa de repetição do pulso, método de refrigeração da superfície irradiada durante a ação do laser e densidade de energia. Igualmente, o efeito da duração de pulso vem sendo recentemente estudado, na tentativa de evitar o aumento de temperatura excessivo e minimizar a ocorrência de danos ao substrato dental pela interação do laser. De fato, a avaliação preliminar dos efeitos dos lasers de pulsos ultracurtos na superfície dental tem apresentado resultados promissores, e indica que a duração de pulso desempenha um papel determinante no processo de ablação dos tecidos duros dentais.

Os lasers de pulsos ultracurtos emitem fótons com durações de pulso na ordem de pico e femtossegundos ($1 \text{ ps} = 1.10^{-12} \text{ s}$ e $1 \text{ fs} = 1.10^{-15} \text{ s}$). A produção de um laser com duração de pulso ainda mais curto foi relatada em 2008 (90), e apresentou um pulso de laser com duração de 80 atossegundos (1.10^{-18} s).

O uso dos lasers de picossegundos para ablação dental foi primeiramente relatado por Niemz em 1995 (91), e já naquela época, foi indicado como uma alternativa viável para a remoção de cárie. Os mesmos benefícios relacionados à remoção seletiva de cárie observados com lasers de érbio de largura de pulso de milissegundos foram relatados, uma vez que o autor observou diferentes taxas de ablação para tecidos cariados e tecidos hígidos. A ablação de tecido duro dental com lasers de femto e nanossegundos mostra que a ablação com pulsos mais longos é baseada em mecanismos termomecânicos, enquanto os lasers de pulsos mais curtos baseiam-se em mecanismos de ablação não térmica (92).

A redução dos danos térmicos aos substratos dentais observados com os lasers de pulsos ultracurtos é baseada nesse aspecto não térmico do processo de ablação. Quando os fótons em pulsos ultracurtos são direcionadas para o tecido-alvo, essa energia do laser extremamente intensa provoca ionização e subsequente avalanche de elétrons no substrato superficial, de modo a produzir pressões e temperaturas extremamente altas. Uma forte onda de choque propaga-se inicialmente no tecido, e enfraquece substancialmente à distância de alguns microns. Devido à duração curta do pulso, essa atenuação é causada por uma onda de rarefação que se segue à onda de choque. O material irradiado é ejetado rapidamente, e consome a maior parte da energia absorvida. Portanto, a ablação eficiente é conseguida sem a obtenção de calor residual significativo, evitando danos térmicos e mecânicos ao material remanescente (93). Como consequência, plasma é formado por uma mistura de partículas de carga positiva (íons), partículas carregadas negativamente (elétrons) e várias partículas sem carga elétrica liberadas pelo processo de ablação. Entre estas partículas, altas concentrações de radicais livres e fragmentos atômicos ou moleculares, que são extremamente reativos, podem estar presentes. Assim, a ocorrência de uma ablação mediada por plasma vem sendo relatada como um dos mecanismos envolvidos na interação do laser com o substrato irradiado, e consiste na interação entre essas partículas altamente reativas e a superfície do material irradiado, induzindo ionização adicional do material. Além disso, essa característica altamente reativa do plasma parece

prejudicar o processo de ablação por interferir na interação da luz com a superfície do substrato (94). Contudo, a produção de plasma é considerada uma consequência da ablação com laser de duração de pulso de pico e femtossegundos, e não a causa, já ele se inicia após alguns nanossegundos, quando o pulso do laser já não está mais incidindo sobre ele. Assim, espera-se que a influência negativa do plasma sobre a ablação ocorra somente em lasers com duração de pulso mais longa, como várias centenas de picossegundos e nanossegundos.

Os primeiros relatos sobre o efeito dos lasers de picossegundos nos substratos dentais iniciaram há mais de uma década (93, 94) e, desde então, vários estudos vêm sendo realizados. Os principais objetivos destes estudos iniciais foram a avaliação da interação do laser com o tecido duro dental e a descrição da morfologia de superfície obtida. Cavidades preparadas com lasers de femtossegundos e picossegundos apresentam-se bem delimitadas, com ausência de danos térmicos evidentes ao substrato irradiado (94, 95). A morfologia superficial tem variado de acordo com os parâmetros de irradiação utilizados, e apresentam desde áreas de fusão e solidificação da dentina e do esmalte, até rugosidade superficial sem derretimento ou carbonização (96). Até o presente momento, não há na literatura relatos de uso clínico dos lasers de pulsos ultracurtos em Odontologia. Seu uso já é frequente em Oftamologia e cirurgias vasculares, além de diversos estudos com diferentes comprimentos de onda e duração de pulso terem sido realizados em esmalte e dentina. Entretanto, o efeito do padrão de superfície e as alterações causadas por estes lasers na adesão ainda não foram descrito na literatura.

Com base na revisão de literatura e considerando as diversas inconsistências relacionadas à técnica atual de preparo cavitário com lasers de érbio e à adesão aos substratos dentais irradiados, torna-se necessário avaliar se fontes de laser alternativas, como os lasers de pulsos ultracurtos, seriam capazes de associar preparo cavitário efetivo à adesão favorável de agentes adesivos.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo *in vitro* teve como objetivos:

1. Avaliar o efeito dos laser de pulsos ultracurtos com duração de femtossegundos e picossegundos em esmalte e dentina. Aspectos morfológicos das superfícies irradiadas serão avaliados, bem como a topografia das cavidades ablacionadas, o aumento de temperatura durante a irradiação e o limiar e a taxa de ablação;
2. Analisar a eficiência de ablação de quatro parâmetros diferentes selecionados, relacionando o aumento de temperatura com a taxa e a eficiência de ablação;
3. Avaliar a qualidade de união entre a resina composta e dentina irradiada com os parâmetros de irradiação selecionados, através do ensaio de microtração e da análise da interface de fratura, bem como da análise da interface adesiva.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Com a finalidade de melhor avaliar a interação entre os lasers de pulsos ultracurtos e os substratos dentais, os experimentos foram divididos em três fases. A primeira fase teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes comprimentos de onda, durações de pulso e protocolos de irradiação em esmalte e dentina. Os parâmetros de irradiação que promoveram os resultados mais favoráveis na primeira fase foram novamente avaliados em uma segunda fase, que estudou a relação entre o aumento de temperatura e a taxa e eficiência de ablação. A última fase teve como objetivo analisar a união à dentina irradiada com os parâmetros selecionados através da aplicação de diferentes protocolos de adesão.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade RWTH Aachen (Anexo A), e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Anexo B).

4.1 FASE 1 – EFEITO DOS PULSOS ULTRACURTOS EM ESMALTE E DENTINA

4.1.1 Preparo dos espécimes

Vinte e cinco terceiros molares humanos recém-extraídos foram selecionados, limpos com o auxílio de curetas periodontais (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), polidos com pedra-pomes (SS White) e água utilizando escovas de Robinson (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação e, finalmente, enxaguados com água destilada.

Após a limpeza, os dentes foram fixados com cera pegajosa à uma placa de acrílico com a junção amelo-dentinária perpendicular à placa, e foram seccionados com o auxílio de uma banda diamantada (E 300, Exakt GmbH, Norderstedt, Alemanha), com a finalidade de se obter fatias de aproximadamente 2 mm de espessura. As fatias foram fixadas em placas de acrílico com adesivo para fixação fotopolimerizável (Technovit 7230 VLC, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Alemanha) e

polidas com lixas de SiC #800 (Struers A/S, Ballerup, Dinamarca) montadas em um sistema de polimento (CS401, Exakt GmbH), sob irrigação constante, até que a espessura de 1 mm fosse atingida.

Para serem incluídas nos experimentos, todas as fatias deveriam consistir em uma porção interna de dentina circundada por uma espessura de esmalte de, no mínimo, 1 mm de largura. Todas as medições foram realizadas com um paquímetro digital (Mitutoyo Co., Kanagawa, Japão). As fatias foram mantidas em água destilada durante todo o experimento. Para este estudo inicial, não foi estabelecido um número fixo de amostras por grupo, e as cavidades foram realizadas aleatoriamente nas 25 amostras.

4.1.2 Irradiação com laser de picossegundos de 355 nm

O efeito dos lasers de pulsos ultracurtos foi inicialmente observado através da irradiação de esmalte e dentina com laser de alta potência a 355 nm (radiação ultravioleta, UV) e pulsos com duração de aproximadamente 10 picossegundos (ps).

Os experimentos foram realizados com o laser de Nd:YAG (SuperRapid, Laser, Lumera GmbH, Kaiserslautern, Alemanha). Quando operando no modo fundamental, o laser de Nd:YAG emite fótons com $\lambda = 1064$ nm. O processo de triplicação da frequência do laser permite a geração de um feixe final com um terço ($1/3$) do comprimento de onda fundamental de 1064 nm, produzindo uma frequência óptica três vezes maior que a do feixe de entrada. Este processo também é chamado de geração do terceiro harmônico (*third harmonic generation, THG*), e foi usado para produzir o feixe de 355 nm. A fonte laser permite uma potência máxima de 4 W, velocidade de escaneamento da superfície de até 2000 mm/s e taxa de repetição de pulso de até 2 MHz. O diâmetro do feixe foi de 20 μm e a duração de pulso foi de aproximadamente 10 ps.

As amostras foram posicionadas na mesa de irradiação do equipamento e o foco do feixe foi ajustado individualmente para cada amostra. O escaner do equipamento foi configurado de forma a entregar o feixe laser percorrendo uma trajetória alternada nos eixos X e Y, resultando na irradiação de um quadrado com 1 mm de lado. A distância entre dois pulsos no eixo X foi definida em 8 μm . A distância

no eixo Y variou conforme a velocidade de escaneamento e taxa de repetição. A área 1 mm² foi irradiada por diversas vezes, e quando a quantidade de varredura da superfície quadrada superava as 50 repetições, a irradiação foi dividida em duas séries iguais de irradiação com intervalo de 20 a 30 segundos entre elas. O excesso de água foi removido da superfície das amostras antes da irradiação com papel absorvente, de modo que o laser pudesse interagir com o substrato úmido. Nenhum sistema de refrigeração foi utilizado durante a irradiação.

As cavidades quadradas com 1 mm de lado foram irradiadas com o laser UV de picossegundos em esmalte e dentina (Figura 4.1), com diferentes parâmetros do laser, conforme apresentado no Quadro 4.1. Para cada cavidade, a taxa de ablação e o aumento de temperatura foram registradas. A topografia e o perfil das cavidades foram analisados, bem como a morfologia da superfície.

Figura 4.1 – Irradiação com laser ultravioleta de picossegundos de 355 nm (A). O limite amelo-dentinário foi delimitado, e cavidades quadradas com 1 mm de lado foram ablacionadas em dentina e esmalte (B)

4.1.3 Irradiação com laser de picossegundos de 532 nm

O mesmo laser de Nd:YAG utilizado para a produção do feixe com comprimento de onda de 355 nm foi utilizado para a geração de um feixe com comprimento de onda de 532 nm, desta vez por geração do segundo harmônico (*second harmonic generation, SHG*). Sob essa condição, a fonte de laser foi capaz de fornecer uma potência de até 7 W, velocidade de escaneamento da superfície de

até 2000 mm/s e taxa de repetição de pulso de até 2 MHz. O diâmetro do feixe foi de 20 μm e a duração de pulso foi de aproximadamente 10 ps.

A irradiação das amostras foi realizada conforme descrito acima, e os parâmetros do laser testados estão apresentados na Tabela 4.1. As cavidades de 1 mm de lado foram produzidas em esmalte e dentina, e nenhum sistema de refrigeração foi utilizado (Figura 4.2). A taxa de ablação e o aumento de temperatura foram registradas para cada cavidade, e a topografia e o perfil das cavidades, bem como a morfologia da superfície, foram avaliados.

Figura 4.2 - Irradiação com laser verde visível de picossegundos de 532 nm na Lumera Laser GmbH, em Kaiserslautern, na Alemanha. Um sistema de bomba de vácuo foi posicionado na mesa de irradiação (A) para remover o vapor liberado pelos substratos dentais ablacionados (B)

4.1.4 Irradiação com laser de femtossegundos de 1045 nm

Para a irradiação da dentina e do esmalte com laser em regime de femtossegundos (fs), uma fonte laser emitindo fótons a 1045 nm (FCPA μ Jewel, IMRA America Inc., Ann Arbor, MI, EUA.) foi usada (Figura 4.3). A potência máxima do equipamento foi de 0,79 W. O foco do feixe foi obtido através do acoplamento de uma objetiva (5x/0,15, Plan-Neofluar, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemanha) ao escaner, que resultou em um feixe de diâmetro de 8,8 μm e potência máxima de 0,3 W. Este sistema limitou da área de irradiação a aproximadamente 5 mm de diâmetro

e a velocidade de escaneamento a 400 mm/s. A duração de pulso foi de cerca de 500 fs. As amostras foram posicionadas sobre a mesa de irradiação do equipamento, e o foco foi reajustado antes de cada irradiação. As amostras foram cuidadosamente secas com papel absorvente para que o laser pudesse interagir com o substrato dental úmido.

Diferentes parâmetros do laser foram testados em esmalte e dentina, conforme apresentado no Quadro 4.1. Posteriormente, as cavidades de 1 mm de lado foram submetidas às análises acima mencionadas.

Figura 4.3 – Irradiação da dentina com laser de femtossegundos de 1045 nm no Centro de Laser do Instituto Fraunhofer (ILT, Aachen, Alemanha). A área irradiada foi limitada pela objetiva a 5 mm de diâmetro. O escaner foi configurado para irradiar a amostra com trajetórias alternadas nos eixos X e Y

4.1.5 Irradiação com laser de picossegundos de 1064 nm

O laser utilizado para a irradiação dos substratos dentais em regime de picossegundos e comprimento de onda de 1064 nm foi o mesmo utilizado para a irradiação com 355 nm e 532 nm (Super Rapid, Lumera Laser GmbH), e permitiu uma potência máxima de 18 W, velocidade de escaneamento da superfície de até 2000 mm/s e taxa de repetição de pulso de até 2 MHz (Figura 4.4). O diâmetro do feixe focado foi de 22 μm e a duração de pulso de aproximadamente 10 ps. A irradiação foi realizada conforme descrito anteriormente.

Os parâmetros testados para a irradiação de esmalte e dentina estão descritos no Quadro 4.1. As cavidades foram submetidas à análise da taxa de ablação, perfil, topografia, morfologia da superfície e aumento de temperatura.

Figura 4.4 – Laser de picossegundos de 1064 nm no Instituto Fraunhofer de Tecnologia a Laser (ILT, Aachen, Alemanha) (A) usado para irradiar substratos dentais com velocidade de escaneamento de até 2000 mm/s e taxa de repetição de pulso de até 2 MHz (B)

Quadro 4.1 – Comprimento de onda dos lasers de pulsos ultracurtos e parâmetros de irradiação testados em dentina e esmalte humanos

Comprimento de onda (Radiação)	Duração de pulso	Taxa de repetição [kHz]	Potência [W]	Energia [μJ/pulso]	Fluência [J/cm²]	Sobreposição de pulso [μm]	Repetições	Velocidade de escaneamento [mm/s]
355 nm (Ultravioleta)	~10 ps	25 - 200	0,4 – 1,5	4 - 28	1,3 – 8,9	2 - 20	20 - 200	200 - 2000
532 nm (Verde visível)	~10 ps	100	1 – 2,5	10 - 25	3,2 - 8	10 - 20	50 - 200	1000 - 2000
1045 nm (Infravermelho)	~ 500 fs	100	0,07 – 0,3	0,7 - 3	1,1 – 4,9	4	20 - 100	400
1064 nm (Infravermelho)	~10 ps	50 - 500	0,2 – 2,9	2 - 29	0,9 – 11,4	2 - 20	10 - 100	100 - 2000

4.1.6 Análise do aumento de temperatura

O aumento da temperatura causada por cada um dos parâmetros do laser foi medido em tempo real, concomitantemente à irradiação das cavidades. Para este experimento, um dispositivo especial foi construído de forma a permitir a medição da temperatura na superfície oposta àquela irradiada (Figura 4.5 A). Essa condição teve como objetivo a simulação de uma situação em que a dentina profunda é ablacionada, e a temperatura alcançada na polpa adjacente à espessura de 1 mm de dentina é aferida.

O sensor a infravermelho usado (Raytek MID, Raytek Co., Santa Cruz, CA, EUA) permitiu o registro de temperaturas entre $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ sem qualquer contato com a amostra. O sensor foi acoplado a uma estrutura de alumínio, sobre a qual uma abertura de 4 mm de diâmetro foi perfurada. A amostra foi posicionada sobre esta abertura, e sua superfície superior foi irradiada. Concomitantemente, a energia térmica na forma de radiação infravermelha na superfície oposta foi refletida por um espelho de alumínio e direcionada para o sensor (Figura 4.5 B, C), que informou, por meio de um *software* (MI Marathon Series 4.7.5, Raytek Co.), a temperatura em tempo real alcançada na superfície inferior da amostra (Figura 4.5 D).

O registro da temperatura foi iniciado alguns segundos antes da ativação do laser, e perdurou até que o laser fosse desativado e temperatura da amostra atingisse a temperatura inicial. O aumento de temperatura foi calculado subtraindo-se a temperatura inicial da temperatura máxima alcançada durante a irradiação (Figura 4.5 E).

Figura 4.5 – A temperatura em tempo real foi medida com um dispositivo construído especialmente para este estudo, sobre o qual a amostra foi posicionada (A). A superfície superior da amostra foi irradiada, e a temperatura foi detectada na superfície inferior (B). O sensor apresentou duas extremidades, uma acoplada a um dispositivo e a outra conectada ao computador (C). O *software* indicou a temperatura aferida pelo sensor (D), e o aumento causado pela ação do laser foi registrado e calculado de acordo com a temperatura inicial (E)

4.1.7 Análise do perfil da cavidade

Após a irradiação, as amostras foram observadas ao microscópio digital (VHX-500F Series, Keyence, Osaka, Japão). O *software* do microscópio gerou uma imagem 3D, que foi construída a partir da combinação de 50 fotos obtidas de uma mesma cavidade, desde seu ponto mais profundo até o seu ponto mais alto.

As imagens 3D permitiram uma avaliação detalhada da topografia da cavidade. Da mesma forma, o perfil foi obtido por meio de um corte digital de cada cavidade em duas direções, de modo que esta pode ser observada em ambos os eixos, X e Y (Figura 4.6).

Figura 4.6 – As cavidades foram observadas ao microscópio digital, e o perfil e a topografia para cada um dos parâmetros de irradiação foram analisados em diferentes ângulos

4.1.8 Avaliação do limiar de ablação e taxa de ablação

Cada área irradiada foi observada sob microscopia digital, tornando possível identificar a densidade de energia na qual o processo de ablação se iniciou, e em qual densidade de energia este não estava mais presente. As áreas irradiadas foram inspecionadas visualmente, e a perda de substrato deveria ser constatada para a ablação ser considerada. A descoloração da superfície somente não foi considerada ablação (Figura 4.7).

Após a irradiação, as dimensões das cavidades foram calculadas com o *software* do microscópio digital, e a taxa de ablação ($\mu\text{m}/\text{pulso}$) foi calculada de acordo com a densidade de energia e o número de pulsos necessários para remover o volume de substrato observado.

Figura 4.7 – As diferentes densidades de energia produziram cavidades com diferentes profundidades (A). O limiar de ablação foi determinado pela observação da densidade de energia a partir da qual a presença de ablação foi inicialmente detectada (B)

4.1.9 Influência da refrigeração da superfície e da espessura da amostra

Um estudo preliminar foi realizado para avaliar a influência da espessura da amostra e da refrigeração da superfície durante a irradiação sobre os valores de taxa de ablação e aumento de temperatura. Os experimentos foram realizados com o laser de picossegundos de 1064 nm, visto que a maior disponibilidade do equipamento permitia a condução de estudos adicionais, além de um único comprimento de onda ser considerado suficiente para a condução do estudo preliminar.

Para a análise da influência da espessura da amostra na ablação, as fatias foram obtidas a partir de terceiros molares, como mencionado anteriormente, e polidas até a espessura de 1 mm e 2 mm. Somente a dentina foi avaliada neste estudo preliminar, visto que o aumento de temperatura para este substrato é considerado mais crítico devido à proximidade à polpa, em comparação ao esmalte. A dentina foi irradiada com os seguintes parâmetros: potência 0,2-2,9 W, taxa de repetição de pulso de 100 kHz, velocidade de escaneamento da superfície de 200 mm/s e densidade de energia de 0,9-11,4 J/cm². O aumento de temperatura e a taxa de ablação para cada espessura da amostra foram analisados.

Para a avaliação da influência da refrigeração na ablação e no aumento de temperatura, fatias de dentina com 1 mm de espessura foram obtidas como descrito anteriormente, e foram irradiadas sob refrigeração com *spray* de ar e água (5

mL/min, 3 bar) ou com ar comprimido (3 bar). O *spray* e o jato de ar foram direcionados para a área irradiada, e a pressão do ar foi regulada de modo a ser suficiente para evitar o acúmulo de água na superfície da amostra (Figura 4.8). O aumento de temperatura e a taxa de ablação foram avaliados como descrito anteriormente.

Figura 4-8 – A influência do método de refrigeração na ablação e no aumento de temperatura foi avaliada através da irradiação das amostras com *spray* de água e ar (5 mL/min, 3 bar) ou com ar comprimido

4.1.10 Análise da morfologia da superfície com Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

As amostras foram então preparadas para a avaliação da morfologia da superfície em MEV. Para tanto, as fatias irradiadas foram imersas em solução de glutaraldeído a 2,5% por 24 horas, seguido de três banhos consecutivos de 10 minutos com solução tampão fosfato a 0,1 M. As amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol (30-100%), com dois banhos de cinco minutos em cada concentração e quatro banhos consecutivos de cinco minutos em concentração de 100%.

Ao final do processo de desidratação, as amostras foram mantidas sobre papel absorvente na estufa por duas horas e, em seguida, montadas em *stubs* e revestidas com ouro (SCD 030, União Balzers, Balzers, Liechtenstein). As imagens foram obtidas com MEV ambiental (Environmental Field Emission SEM Philips XL30, Philips Eletronica da FEI-Optics, Eindhoven, Holanda), e as áreas observadas e ampliações foram determinadas de forma a permitir uma melhor avaliação da topografia predominante em cada amostra.

4.2 FASE 2 – SELEÇÃO DOS PARÂMETROS DE IRRADIAÇÃO

Para a análise da qualidade de união entre resina composta e dentina, os parâmetros do laser foram escolhidos de acordo com os resultados observados nos experimentos da Fase 1. Os parâmetros foram selecionados quando relacionaram taxa de ablação satisfatória com aumento mínimo de temperatura, bem como ausência de trincas, derretimento ou carbonização. Dois parâmetros de irradiação foram selecionados, um com duração de pulso de femtossegundos (A1), e outro com duração de pulso de picossegundos (B1). Além destes dois parâmetros eleitos, a maior densidade de energia para cada duração de pulso (A2 e B2 para lasers de femto e picossegundos, respectivamente) também foi considerada para a fase seguinte, a fim de permitir a avaliação dos padrões de adesão às superfícies que, teoricamente, foram excessivamente alteradas. Os seguintes parâmetros foram escolhidos: comprimento de onda, velocidade de escaneamento da superfície, taxa de repetição de pulso, potência e densidade de energia (Quadro 4.2).

Quadro 4.2 – Comprimentos de onda, durações de pulso e parâmetros de irradiação selecionados para a condução dos estudos de taxa e eficiência de ablação, aumento de temperatura e resistência adesiva

Grupo λ	DP	TR [kHz]	P [W]	E [μ J/pulso]	DE [J/cm ²]	SP [μ m]	Rep.	V. Esc. [mm/s]
A1 1045 nm	~ 500 fs	100	0,15	1,5	2,5	4	20	400
A2 1045 nm	~ 500 fs	100	0,3	3	4,9	4	20	400
B1 1064 nm	~ 10 ps	100	1,5	15	4	20	10	2000
B2 1064 nm	~ 10 ps	100	2,9	29	7,6	20	10	2000

λ = Comprimento de onda; DP = Duração de pulso; TR = Taxa de repetição do pulso; P = Potência de saída; E = Energia por pulso; DE = Densidade de energia; SP = sobreposição de pulso; Rep.= Repetição do escaneamento da superfície; V. Esc.= Velocidade de escaneamento da superfície

4.2.1 Análise dos parâmetros selecionados

Para uma análise mais aprofundada dos quatro parâmetros selecionados, dez fatias de dentes terceiros molares foram preparadas como descrito anteriormente. Diversas cavidades foram ablacionadas em ambos, dentina e esmalte, para cada parâmetro selecionado (A1, A2, B1 e B2). Os valores de aumento de temperatura e taxa de ablação foram registrados. A eficiência de ablação (mm³/J) foi calculada a partir de taxa de ablação e dos valores de fluência. A relação entre aumento de temperatura e taxa de ablação ou eficiência de ablação foi avaliada.

4.3 ADESÃO À DENTINA IRRADIADA

4.3.1 Preparo dos espécimes

Para o teste de microtração, os quatro parâmetros selecionados na Fase 2 foram considerados. Cem terceiros molares humanos recém-extraídos foram selecionados e limpos. Os dentes foram fixados com cera pegajosa a uma placa de acrílico com a junção esmalte-cimento perpendicular à placa, e tiveram a superfície oclusal removida com a utilização de uma banda de diamante (E 300, Exakt GmbH). Qualquer resquício de esmalte na superfície oclusal foi desgastado com lixa de papel SiC #180, até que uma superfície plana de dentina de profundidade média (1 mm abaixo da junção amelo-dentinária) fosse obtida. A superfície dentinária recebeu acabamento com lixa SiC # 800 durante um minuto, sob irrigação constante, para a padronização da *smear layer* formada.

4.3.2 Tratamento da superfície

As amostras foram aleatoriamente divididas em cinco grupos (n=20). As amostras do grupo controle não foram submetidos à irradiação com laser, e as superfícies de dentina permaneceram com o tratamento de polimento. Nos demais quatro grupos, a dentina foi irradiada com lasers de femto e picossegundos, com os parâmetros previamente selecionados (A1, A2, B1 e B2, Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Grupos experimentais e sistemas adesivos utilizados para o ensaio de microtração

Grupos	Clearfil SE Bond*		Adper Single Bond 2**	
Controle	- Primer (Primer não usado antes do Bond)	+ Primer (Primer usado antes do Bond)	- Condicionamento ácido (sem condicionamento ácido antes do Bond)	+ Condicionamento ácido (com condicionamento ácido antes do Bond)
A1	- Primer	+ Primer	- Condicionamento ácido	+ Condicionamento ácido
A2	- Primer	+ Primer	- Condicionamento ácido	+ Condicionamento ácido
B1	- Primer	+ Primer	- Condicionamento ácido	+ Condicionamento ácido
B2	- Primer	+ Primer	- Condicionamento ácido	+ Condicionamento ácido

* **Clearfil SE Bond** – Composição: Primer: 10-MDP, HEMA, dimetacrilato hidrofílico, canforoquinona, N,N-dietanol-p-toluidina, água. Adesivo: 10-MDP, HEMA, Bis-GMA, dimetacrilato hidrofóbico, canforoquinona, N-N-dietanol-p-toluidina, sílica coloidal silanizada. Instruções do fabricante: Aplicar o Primer por 20 segundos e secar gentilmente com ar. Aplicar o Adesivo, secar gentilmente e fotoativar por 10 segundos.

** **Adper Single Bond 2** – Composição: BisGMA, HEMA, dimetacrilatos, copolímero do ácido polialcenóico, sílica coloidal silanizada de 5 nm, etanol, água, fotoiniciador. Instruções do fabricante: Aplicar o ácido fosfórico a 37% por 15 segundos, enxaguar por 10 segundos e remover o excesso de água com papel absorvente. Aplicar 2 camadas consecutivas do adesivo por 15 segundos com leve agitação, secar gentilmente por 5 segundos e fotoativar por 10 segundos.

4.3.3 Procedimentos adesivos

Após o tratamento da superfície dentinária, as amostras foram divididas em quatro subgrupos, de acordo com o protocolo adesivo recebido (n=5). Dois sistemas adesivos foram selecionados, um autocondicionante de dois passos (Clearfil SE Bond, Kuraray Medical Inc., Okayama, Japão) e um “condicione e lave” de dois passos (Adper Single Bond 2, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA). Para os subgrupos CL + P (Clearfil com Primer) e SB + A (Single Bond com condicionamento ácido), ambos os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes, incluindo a utilização prévia de condicionamento ácido e Primer, respectivamente (Tabela 4.1). Os subgrupos CL-P (Clearfil sem Primer) e SB-A (Single Bond sem condicionamento ácido) recebeu apenas Clearfil Bond e o adesivo Single Bond após o tratamento de superfície, sem aplicação prévia de Primer ou ácido, respectivamente. Foram cinco espécimes de dentina por subgrupo. A fotoativação dos adesivos foi realizada a 800 mW/cm^2 (bluephase 8, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein).

4.3.4 Ensaio de Microtração

Após a aplicação dos sistemas adesivos, um bloco de resina composta (Filtek Z250, 3M ESPE) de aproximadamente $5 \times 5 \times 3 \text{ mm}$ foi construída sobre a superfície adesiva, e cada incremento de cerca de 1,5 milímetro foi fotoativado durante 20 segundos. As amostras foram armazenadas em água destilada por 24 horas a 37°C .

Posteriormente, as amostras foram fixadas com cera pegajosa a uma placa de acrílico e seccionadas com o uso da banda de diamante a uma velocidade de 25 m/min , sob refrigeração, para obter palitos com $0,8 \times 0,8 \text{ mm}$, aproximadamente. Os dentes foram seccionados nas direções vestibulo-lingual e méso-distal, perpendicularmente à interface adesiva. Os palitos possuíam uma área transversal de $\sim 0,7 \text{ mm}^2$ (Figura 4.9), que foi controlada com o paquímetro digital (Mitutoyo Co.). Nove palitos por dente foram selecionados para o ensaio de microtração. Cada

palito foi analisado com estereomicroscópio (MZ6, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha), e os que continham excesso de adesivo, trincas ou falhas na interface adesiva foram excluídos.

Figura 4.9 – As amostras foram fixadas com cera pegajosa a uma placa acrílica e seccionadas nas direções vestibulo-lingual e mésio-distal, perpendicularmente à interface dentina-resina (A). Palitos de aproximadamente 0,8 x 0,8 mm, foram produzidos (B), e fixados aos *jigs* metálicos com cianoacrilato paralelamente ao seu longo eixo (C)

Os espécimes foram fixados ao dispositivo de metal paralelamente ao longo eixo com cianoacrilato (Figura 4.10). O dispositivo foi acoplado à máquina universal de ensaios (zwicki Z 2.5, Zwick, Ulm, Alemanha) e tracionado até a fratura do espécime com carga de 50 N e velocidade de 0,5 mm/min. A resistência à microtração foi registrada em N, e este valor foi dividido pela área da seção transversal da amostra, de modo que os valores foram calculados em MPa e submetidos à análise estatística ($\alpha \leq 0,05$).

Figura 4.10 – O dispositivo de metal com os palitos foram acoplado à máquina de ensaios universal zwicki Z 2.5. A imagem ampliada mostra a estratégia de ensaio, na qual a porção inferior do dispositivo de metal foi acoplada a uma base fixa (1), enquanto a superior foi acoplada a uma parte móvel e articulada (2), que visava evitar a flexão da amostra durante o ensaio. A parte superior foi tracionada com velocidade de 0,5 mm/min

4.3.4.1 Análise da superfície de fratura

As superfícies fraturadas de cada palito foram imersas em azul de metileno a 0,05% durante 20 segundos e observados com estereoscópio (MZ6, Leica Microsystems GmbH), que foi acoplado a uma câmera digital (Hitachi HV C2A, Wetzlar, Alemanha) e permitiu a análise detalhada das imagens com o *software* Diskus 4.2 (Hilgers, Königswinter, Alemanha). O modo de falha foi classificado como: 1) falha adesiva entre dentina e resina, 2) falha coesiva da resina ou dentina, ou 3) falha mista, com o adesivo e falhas coesivas dentro da mesma superfície fraturada. A percentagem de ocorrência de cada tipo de falha foi calculada para os diferentes grupos experimentais. As falhas mais representativas de cada grupo tiveram as

superfícies limpas, secas, revestidas com ouro e observadas em MEV com 80X de ampliação.

4.3.5 Estudo da interface adesiva

Três fatias de 3 mm de espessura foram obtidas de terceiros molares humanos para cada subgrupo, como mencionado anteriormente. Os cortes foram submetidos aos tratamentos de superfície de acordo com a Tabela 4.1, e foram submetidos mesmos protocolos adesivos descritos nos itens 4.3.2 e 4.3.3. Após a aplicação dos sistemas adesivos, um incremento de aproximadamente 1 mm de resina composta (Filtek Z250, 3M ESPE) foi aplicado sobre a superfície adesiva e do durante 20 segundos. As amostras foram armazenadas em água destilada a 37 ° C por 24 horas.

Após o armazenamento, as amostras foram fixadas com cera pegajosa a uma placa de acrílico e seccionadas na área central da restauração no sentido méso-distal. O corte expôs a interface dentina-resina, e esta superfície foi polida com lixa de papel SiC #240, 400, 800, 1200, 2400 e 4000, com irrigação constante, durante 30 segundos cada.

Depois de lavadas com água destilada, as amostras foram imersas em uma solução aquosa de ácido clorídrico 5 M por 20 segundos, lavadas novamente com água destilada e imersas em hipoclorito de sódio a 1% por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram novamente lavadas com água destilada, imersas em solução de glutaraldeído a 2,5% por 24 horas, desidratadas em concentrações crescentes de etanol (30-100%), montadas em *stubs* e revestidas com ouro. Eletromicrografias com 500X, 1000X, 5000X, 10000X de ampliação foram obtidas na área da interface adesiva. As características da camada híbrida e dos *tags* de resina foram analisadas para cada tratamento de superfície.

5 RESULTADOS

5.1 EFEITO DOS LASER DE PULSOS ULTRACURTOS EM ESMALTE E DENTINA

5.1.2 Laser de picossegundos de 355 nm

A avaliação das cavidades produzidas com laser de 355 nm ultravioleta de picossegundos mostraram que o esmalte e a dentina apresentaram taxa de ablação e aumento de temperatura diferentes para o mesmo parâmetro do laser, indicando que o substrato influencia o processo de ablação para este comprimento de onda e duração de pulso (Gráficos 5.1 e 5.2).

O mesmo parâmetro produziu cavidades mais profundas em dentina que em esmalte, de acordo com as curvas da taxa de ablação apresentadas no gráfico 5.1. Esta diferença foi mais significativa com a velocidade de escaneamento mais lenta (200 mm/s, linha vermelha) que com a velocidade mais rápida (2000 mm/s, linha azul). Essa diferença também pode ser observada na Figura 5.1, que mostra as cavidades mais profundas em dentina em relação ao esmalte para um mesmo parâmetro do laser.

Gráfico 5.1 – Taxa de ablação (eixo Y) para esmalte (A) e dentina (B), em função da fluência (eixo X) e da velocidade de escaneamento da superfície (200 mm/s para a linha vermelha, 2000 mm/s para a azul). (355 nm, 100 kHz, sem refrigeração)

Figura 5.1 – Perfil das cavidades em esmalte (A) e dentina (B). Os mesmos parâmetros do laser foram utilizados para ambos os substratos, porém a ablação da dentina foi mais intensa, resultando em cavidades mais profundas (355 nm, 200 mm/s, 100 kHz, 0,4 W, 1,3 J/cm², sem refrigeração)

Quando a maior densidade de energia foi utilizada, o processo de ablação em dentina foi acompanhado por um aumento de temperatura excessivo e carbonização intensa, enquanto a mesma densidade de energia em esmalte provocou aumento de temperatura mais brando e leve carbonização (Figura 5.2 A, B, Gráfico 5.2). Este fato caracteriza a ablação seletiva do laser de 355 nm. Outro fato que confirma esta seletividade é a topografia individual de cada cavidade. Na Figura 5.2 C, a cavidade no esmalte é mais profunda quanto mais perto da dentina, o que significa que uma ablação intensa ocorreu nesta área, e de fato, a carbonização em esmalte foi notada somente nestes locais. Para as cavidades em dentina (Figura 5.2 D), a profundidade aumentou quanto mais longe do esmalte. Os parâmetros do laser utilizados resultaram em cavidades mais profundas em dentina que em esmalte, no entanto, ambos os substratos apresentaram cavidades bem delimitadas com ângulos cavo-superficiais definidos (Figura 5.2 E, F).

Figura 5.2 – Topografia das cavidades em esmalte e dentina. O mesmo parâmetro do laser foi suficiente para causar carbonização intensa em dentina (A), mas não em esmalte (B). O processo de ablação foi tão intensa em dentina, que a cavidade perfurou a amostra de 1 mm de espessura (D), enquanto em esmalte a cavidade apresentou menos da metade desta profundidade (C). Para o esmalte, o processo de ablação foi mais intenso na área próxima à dentina (A), resultando em cavidades mais profundas nessa área (C). Para a dentina, o mesmo foi observado em regiões distantes do esmalte (D). As cavidades são bem delimitadas e com ângulo cavo-superficial definido (E, F). (355 nm, 200 mm/s, 100 kHz, 1 W, 3,2 J/cm², sem refrigeração)

Gráfico 5.2 – Aumento da temperatura (eixo Y) durante a irradiação de esmalte (A) e dentina (B), em função da fluência (eixo X) e da velocidade de escaneamento da superfície (200 mm/s para a linha vermelha, 2000 mm/s para a azul) (355 nm, 100 kHz, sem refrigeração)

Tanto para o esmalte quanto para a dentina, o aumento de temperatura variou de acordo com velocidade de escaneamento da superfície. A velocidade mais lenta de escaneamento (200 mm/s) resultou em aumento de temperatura de até 76 °C para o esmalte e 101 °C para a dentina. Contrariamente, a velocidade mais rápida de escaneamento (2000 mm/s) provocou um aumento de temperatura mais leve e semelhante para ambos os substratos, 27 °C para o esmalte e 26 °C para a dentina, como indicado pelas linhas azuis no Gráfico 5.2.

Para a velocidade de 200 mm/s, foi observado maior aumento de temperatura, bem como taxa de ablação mais intensa (Gráfico 5.1). Tais resultados estão relacionados à sobreposição de pulsos decorrente da velocidade mais lenta, que leva ao acúmulo de energia e, conseqüentemente, ablação intensa e temperatura mais elevada.

Quando a mesma potência e fluência foram utilizadas, a velocidade de 200 mm/s produziu cavidades mais profundas que 2000 mm/s e carbonização, tanto para esmalte (Figura 5.3 A, B) quanto para dentina (Figura 5.3 C, D). A análise da morfologia de superfície com MEV mostrou uma intensa alteração no padrão morfológico dos substratos dentais, conforme descrito na Figura 5.4.

Figura 5.3 – Perfil das cavidades em esmalte (A, B) e dentina (C, D). Para o mesmo parâmetro do laser, a velocidade de 200 mm/s (A, C) produziu cavidades mais profundas que 2000 mm/ (B, D). Carbonização foi apenas observada para 200 mm/s. A ablação foi mais intensa em dentina, de modo que a cavidade perfurou a amostra de 1 mm de espessura. As cavidades de 2000 mm/s apresentaram o fundo irregular, com menor ablação na periferia, causada pela combinação do escaner de alta velocidade com a interrupção da emissão do feixe (B, D). (355 nm, 200 e 2000 mm/s, 100 kHz, 1,5 W, 4,8 J/cm², sem refrigeração)

Figura 5.4 – Eletromicrografias de esmalte (A-C) e dentina (D-F) irradiados com laser de picossegundos de 355 nm (65X, 5000X e 15000 X). As cavidades mostraram-se bem delimitadas e com ângulo cavo-superficial definido. As trincas em A e D foram resultado do preparo de amostras, e não são uma consequência da ação do laser. O processo de ablação causou fusão e solidificação de ambos os substratos (setas vermelhas), deposição das partículas ejetadas durante a ablação (setas azuis) e algumas nanotrincas (círculos verdes). Os nanoporos em C e F podem ter resultado da fusão da estrutura, pelo escape dos gases produzidos durante a fusão para a superfície. A estrutura original do esmalte é dificilmente reconhecida (prismas apontados pela seta amarela). Para a dentina, a abertura dos túbulos dentinários estão cobertas por dentina derretida ou são facilmente confundidos com os poros criados durante a fusão. (355 nm, 200 mm/s, 100 kHz, 1 W e 3,2 J/cm² para o esmalte, 0,7 W e 2,2 J/cm² para a dentina, sem refrigeração)

5.1.3 Laser de picossegundos de 532 nm

As cavidades produzidas com laser verde visível de picossegundos de 532 nm não apresentou áreas de carbonização, mesmo quando as maiores densidades de energia foram utilizadas. O aumento de temperatura e a taxa de ablação para o esmalte e a dentina estão apresentados no Gráfico 5.3. O aumento de temperatura para ambos pareceu semelhante, uma vez que a pequena diferença que indica que os maiores valores para a dentina também podem resultar de diferenças entre as estruturas das amostras. As maiores densidades de energia não causaram aumento de temperatura superior a 20 °C, conforme apresentado no Gráfico 5,3 A.

Em contraste, a taxa de ablação variou de acordo com o substrato dental irradiado, com maiores valores para a dentina (Gráfico 5.3 B). A diferença entre as cavidades em esmalte e dentina pode ser observada na Figura 5.5.

Gráfico 5.3 – Aumento de temperatura (A) e taxa de ablação (B) em função da fluência para esmalte (linha azul) e dentina (linha vermelha) (532 nm, 100 kHz, 2000 mm/s, sem refrigeração)

A análise da topografia demonstrou que a profundidade variou dentro de uma mesma cavidade. Para esmalte, áreas mais profundas foram localizadas mais próximas à dentina, enquanto para a dentina, áreas mais profundas estavam concentradas distantes ao esmalte, mais próximas ao centro da amostra (Figura 5.6). A morfologia da superfície foi avaliada com MEV e está descrita na Figura 5.7.

Figura 5.5 – Perfil e topografia das cavidades em esmalte (A-C) e dentina (D-F), para o mesmo parâmetro do laser. As cavidades apresentaram diferentes profundidades, porém não houve carbonização. A ablação foi mais intensa em dentina, produzindo cavidades mais profundas que perfuraram a amostra de 1 mm de espessura. Para ambos os substratos, as cavidades foram bem delimitadas e definidas (532 nm, 2000 mm/s, 100 kHz, 2.5 W, 8 J/cm², sem refrigeração)

Figura 5.6 – O processo de ablação em esmalte foi mais intenso na área próxima à dentina (A), enquanto as áreas mais profundas para a dentina foram encontradas distantes ao esmalte (B) (532 nm, 1000 mm/s, 100 kHz, 1,3 W, 4,1 J/cm², sem refrigeração)

Figura 5.7 – Eletromicrografias de esmalte (A-C) e dentina (D-F) irradiados com laser de picossegundos de 532 nm (65X, 5000X e 15000 X). As cavidades mostraram-se bem delimitadas e com ângulo cavo-superficial definido. A trajetória do feixe laser durante a irradiação pode ser identificada (linhas amarelas, A, D). Para o esmalte (B, C), as microexplosões provocadas pela ablação causaram intensa rugosidade na superfície. Apesar das alterações, a estrutura original prismática pode ser facilmente identificada (setas vermelhas). Áreas derretidas e ressolidificadas podem ser observadas (círculo verde), bem como poros formados pelo escape de gases durante a fusão (setas azuis). Houve leve deposição de partículas em esmalte (setas brancas), e ausência de deposição em dentina, que também não apresentou fusão da estrutura. Apesar da intensa rugosidade, a abertura dos túbulos ainda pode ser identificada (setas amarelas). Não foram observadas nanotrincas, tanto para a dentina quanto para o esmalte. (532 nm, 2000 mm/s, 100 kHz, 1,3 W, 4,1 J/cm², sem refrigeração)

5.1.5 Laser de femtossegundos de 1045 nm

Para o preparo das cavidades com laser de femtossegundos de 1045 nm, o aumento de temperatura na parte inferior da amostra de 1 mm de espessura não foi superior a 5,8 °C para o esmalte e 4,5 °C para a dentina. Em contraste, as taxas de ablação em dentina foram maiores que em esmalte, indicando que o laser de femtossegundos com os parâmetros utilizados são capazes de ablacionar seletivamente os substratos dentais (Gráfico 5.4). Esta diferença pode ser notada na Figura 5.8, na qual o limiar de ablação para cada substrato está indicado.

Gráfico 5.4 – Aumento de temperatura (A) e taxa de ablação (B) em função da fluência para esmalte (linha azul) e dentina (linha vermelha) (1045 nm, 100 kHz, 2000 mm/s, sem refrigeração)

Quando os parâmetros mais altos de irradiação foram usados, a presença de carbonização não foi observada, e a dentina apresentou cavidades mais profundas que o esmalte (Figura 5.9). A profundidade em uma mesma cavidade variou tanto para esmalte quanto dentina, com áreas mais profundas próximas à dentina e distantes do esmalte, respectivamente. As eletromicrografias apresentaram uma morfologia peculiar da superfície de esmalte e dentina, conforme apresentado na Figura 5.10.

Figura 5.8 – Perfil e topografia das cavidades em esmalte (A) e dentina (B). O limiar de ablação para o esmalte foi de $1,6 \text{ J/cm}^2$, e a ablação iniciou nas áreas próximas à dentina. Uma pequena área de dentina foi irradiada casualmente durante o preparo da cavidade no esmalte, e a ablação nesta área foi significativamente maior, indicando a diferença nas propriedades de ablação dos substratos (A). O limiar de ablação da dentina foi de $1,1 \text{ J/cm}^2$, e a ablação iniciou nas áreas distantes ao esmalte. Áreas próximas ao esmalte apresentaram leve descoloração, mas não houve remoção de substrato (B) (1045 nm, 100 kHz, 400 mm/s, sem refrigeração)

Figura 5.9 – Para o laser de femtossegundos, nenhuma fluência testada foi capaz de causar carbonização. As cavidades em esmalte (A) foram menos profundas que em dentina (B), e a profundidade variou dentro de uma mesma cavidade para ambos (1045 nm, $4,9 \text{ J/cm}^2$, 0,3 W, 100 kHz, 400 mm/s, sem refrigeração)

Figura 5.10 – Eletromicrografias de esmalte (A-C) e dentina (D-F) irradiados com laser de femtossegundos de 1045 nm (65X, 5000X e 15000 X). As cavidades mostraram-se bem delimitadas e com ângulo cavo-superficial definido. É possível notar que uma pequena porção da dentina foi atingida durante o preparo da cavidade em esmalte (A). Para o esmalte, a ablação causou intensa rugosidade na superfície, poucas nanotrincas (setas vermelhas), e a estrutura prismática original foi quase completamente preservada. Derretimento e ressolidificação do podem ser observados (círculo verde), bem como os poros formados pelo escape de gases durante o processo de fusão (setas azuis). Não houve deposição de partículas em esmalte e dentina. Apesar da intensa rugosidade, a estrutura original da dentina foi preservada, e abertura dos túbulos podem ser identificados (setas amarelas), assim como algumas nanotrincas (setas vermelhas). Não houve derretimento da estrutura (1045 nm, 400 mm/s, 100 kHz, 0,3 W, 4,9 J/cm², sem refrigeração)

5.1.4 Laser de picossegundos de 1064 nm

O preparo das cavidades em esmalte e dentina com laser de picossegundos de 1064 nm apresentou aumento de temperatura e taxa de ablação semelhante para ambos, para as duas velocidades de escaneamento testadas (Gráficos 5.5 e 5.6).

Gráfico 5.5 – Aumento da temperatura (eixo Y) durante a irradiação de esmalte (A) e dentina (B), em função da fluência (eixo X) e da velocidade de escaneamento da superfície (200 mm/s para a linha vermelha, 2000 mm/s para a azul) (1064 nm, 100 kHz, sem refrigeração)

Gráfico 5.6 – Taxa de ablação (eixo Y) para esmalte (A) e dentina (B), em função da fluência (eixo X) e da velocidade de escaneamento da superfície (200 mm/s para a linha vermelha, 2000 mm/s para a azul) (1064 nm, 100 kHz, sem refrigeração)

A menor velocidade de escaneamento mostrou uma leve tendência a causar aumento de temperatura mais elevado e menor taxa de ablação para ambos os substratos, mas esta diferença pode ser causada pela variação considerável nos valores registrados. O oposto é observado para maiores velocidades de escaneamento, para as quais se pode inferir que os valores de aumento de temperatura foram mais baixos, e da taxa de ablação, mais altos. A pequena diferença entre as taxas de ablação do esmalte e da dentina é notável pela profundidade das cavidades irradiadas com uma mesma velocidade (Figura 5.11 A, B com 200 mm/s; C, D com 2000 mm/s). Cavidades preparadas com 2000 mm/s apresentaram profundidade ligeiramente maiores que as preparados com 200 mm/s. Para ambos os substratos, a profundidade variou dentro de uma mesma cavidade, conforme demonstrado pela inclinação do fundo das cavidades no perfil baixo.

Figura 5.11 – Perfil das cavidades em esmalte (A, B) e dentina (C, D). Não houve carbonização, e ambos apresentaram profundidades de cavidade semelhantes para todas as velocidades de escaneamento da superfície de 200 mm/s (A, C) e 2000 mm/s (B, D). A profundidade variou dentro de uma mesma cavidade para ambos os substratos e velocidades. As cavidades preparadas com 2000 mm/s apresentaram a periferia mais profunda, causada pela desaceleração do escaner nessa área (1064 nm, 7,6 J/cm², 2,9 W, 100 kHz, sem refrigeração)

Figura 5.12 – Eletromicrografias de esmalte (A-C) e dentina (D-F) irradiados com laser de picossegundos de 1064 nm (65X, 5000X e 15000 X). Cavidades bem delimitadas e ângulo cavo-superficial definido. Em esmalte, intensa rugosidade superficial foi causada pela ablação, mas apesar das alterações, a estrutura original prismática pode ser facilmente identificada (setas vermelhas). Pode-se notar áreas de derretimento e ressolidificação em esmalte (círculo verde), bem como poros formados durante a fusão (setas azuis). Não houve deposição de partículas de ablação em esmalte e dentina. Não houve derretimento em dentina, e apesar da intensa rugosidade produzida pela ablação na superfície dentinária, a abertura dos túbulos ainda pode ser identificada (setas amarelas). Poucas nanotrincas foram observadas, tanto em dentina quanto em esmalte (setas brancas) (1064 nm, 200 mm/s, 100 kHz, 2,9 W, 7,6 J/cm², sem refrigeração)

Figura 5.13 – Eletromicrografias de esmalte (A-C) e dentina (D-F) irradiados com laser de picossegundos de 1064 nm (65X, 5000X e 15000 X), mas com velocidade de escaneamento da superfície de 2000 mm/s. As cavidades são bem delimitadas e o ângulo cavo-superficial definido, e a morfologia de superfície foi diferente da obtida com 200 mm/s. Em esmalte, a rugosidade superficial ainda é observada, mas as alterações parecem ser mais intensas que as obtidas com menor velocidade de escaneamento. Há áreas mais amplas de esmalte derretido (círculo verde), que são intercaladas com áreas prismáticas originais (setas vermelhas). A deposição de partículas ablacionadas não é observada em para esmalte e dentina. Não houve fusão da superfície de dentina, e a abertura dos túbulos ainda pode ser identificada (setas amarelas). Apesar da morfologia de superfície ser consideravelmente mais alterada, poucas nanotrincas são observadas, tanto para dentina e esmalte (setas brancas) (1064 nm, 2000 mm/s, 100 kHz, 2,9 W, 7,6 J/cm², sem refrigeração)

É possível observar que a morfologia da superfície da dentina irradiada com a maior densidade de energia variou consideravelmente com velocidade de escaneamento da superfície. A ablação com velocidade de 200 mm/s produziu uma superfície mais homogênea (Figura 5.12), enquanto a velocidade de 2000 mm/s provocou nanoalterações na superfície da dentina (Figura 5.13). Estas morfologias distintas de superfície podem ser observadas na Figura 5.14, que apresenta micrografias das superfícies dentinárias com magnificação de 50000X.

Figura 5.14 – Eletromicrografias com ampliação de 50000X da dentina irradiada com laser de picossegundos de 1064 nm e velocidade de escaneamento de 200 mm/s (A) e 2000 mm/s (B). As alterações morfológicas decorrentes da ablação com 2000 mm/s foram mais intensas, provocando nanorrugosidades na superfície dentinária. Em oposição, a menor a velocidade produziu uma superfície menor alterada, inferindo que a ação do laser foi menos intensa nestas condições (A) (1064 nm, 100 kHz, 2,9 W, 7,6 J/cm², sem refrigeração)

5.1.6 Influência da espessura do espécime

A influência da espessura da amostra de dentina na ablação com laser de picossegundos de 1064 nm foi avaliada preliminarmente, para permitir uma visão do comportamento da temperatura e dos valores da taxa de ablação para espessuras de 1 e 2 mm.

Os dados para aumento de temperatura e taxa de ablação estão apresentados no Gráfico 5.7. A temperatura variou de acordo com a espessura da amostra, como já era esperado, com maiores valores para a espessura de 1 mm. Já

que o mesmo substrato foi irradiado para ambas as espessuras, não era esperada diferença entre as taxas de ablação, no entanto, uma pequena diferença pode ser notada entre as taxas obtidas para 1 mm e 2 mm de espessura Gráfico 5.7 B).

Gráfico 5.7 – Aumento de temperatura (eixo Y) em dentina em função da fluência (eixo X) de acordo com a espessuras de 1 mm (linha azul) e 2 mm (linha vermelha) das amostras (A). Amostras de 1 mm apresentaram aumento de temperatura superior às de 2 mm. As taxas de ablação para ambas espessuras apresentaram valores ligeiramente superiores para as amostras de 1 mm de espessura (B). (1064 nm, 100 kHz, de 200 mm/s, sem refrigeração)

Quando a mesma fluência foi utilizada, as cavidades produzidas em amostras de 1 mm e 2 mm de espessura apresentaram profundidade semelhante, com uma tendência para cavidades mais profundas em amostras de 2 mm de espessura (Figura 5.15). A profundidade variou dentro de uma mesma cavidade para ambas as espessuras, conforme indicado pelo perfil inclinado do fundo das cavidades.

Apesar de geralmente mais profundas, as cavidades em amostras de 2 mm de espessura pareceram mais estreitas, enquanto as cavidades em amostras de 1 mm de espessura foram ligeiramente mais amplas e menos profundas (Figura 5.16 A, B). Esse padrão foi observado mesmo com baixas densidades de energia (Figura 5.16 C, D). Essa diferença entre as dimensões das cavidades resultaram em taxas de ablação similares, ainda que valores levemente mais elevados para 1 mm de espessura possam ser observados no Gráfico 5.7 B.

Figura 5.15 – Apesar da maior taxa de ablação para amostras com 1 mm de espessura apresentada no Gráfico 5.7, algumas cavidades preparadas em 2 mm de espessura (B) foram ligeiramente mais profundas que em 1 mm de espessura (A). A topografia variou para uma mesma cavidade para ambas espessuras. (1064 nm, 7,8 J/cm², 2 W, 100 kHz, de 200 mm/s, sem refrigeração)

Figura 5.16 – Para o mesmo parâmetro do laser, cavidades em 1 mm de espessura (A) foram ligeiramente mais rasas e amplas que as cavidades em 2 mm de espessura (B), que eram geralmente mais profundas e estreitas. Esta topografia foi também observada para outras densidades de energia (C, D). Nenhuma carbonização foi observada (1064 nm, 200 mm/s, 100 kHz, sem refrigeração)

5.1.7 Influência da refrigeração durante a irradiação

A influência de diferentes métodos de refrigeração durante a irradiação sobre o processo de ablação foi avaliado preliminarmente. O aumento de temperatura e a taxa de ablação foram estudados para amostras de dentina com 1 mm de espessura irradiadas com laser de picossegundos de 1064 nm (Gráfico 5.8).

Gráfico 5.8 – O aumento de temperatura (A) e a taxa de ablação (B) foram avaliadas para a dentina irradiada sem refrigeração (linha vermelha), sob refrigeração com *spray* de ar e água (linha azul) e sob refrigeração com ar comprimido (linha verde) (1064 nm, 100 kHz, 200 mm/s)

O preparo das cavidades com refrigeração por *spray* de ar e água (5 mL/min, 3 bar) resultou em baixo aumento de temperatura, com valor máximo de 7,1 °C. Este aumento foi tendenciosamente constante, mesmo quando as maiores densidades de energia foram utilizadas. Apesar do baixo aumento de temperatura, a refrigeração com *spray* de ar e água influenciou consideravelmente a taxa de ablação, resultando na redução drástica dos valores registrados. A refrigeração com ar comprimido (3 bar) apresentou valores variáveis, mas o aumento de temperatura não diferiu significativamente da ausência de refrigeração. Além disso, menores taxas de ablação foram observadas.

Para o mesmo parâmetro do laser, diferentes modos de refrigeração produziram diferentes perfis de cavidade, como mostrado na Figura 5.17.

Figura 5.17 – A ausência de refrigeração produziu cavidades mais profundas e delimitadas (A, B). O fluxo de água no *spray* (9 mL/min) influenciou significativamente a ablação e reduziu drasticamente a ablação (C, D), enquanto o menor fluxo (5 mL/min) resultou na taxa de ablação ligeiramente superior (E, F). O uso de ar comprimido produziu cavidades com profundidade e topografia similares àsquelas desprovidas de refrigeração (G, H). (1064 nm, 100 kHz, 2,9 W, 11,4 J/cm², 200 mm/s)

5.2 PARÂMETROS DE IRRADIAÇÃO SELECIONADOS

Com base nos resultados obtidos nos estudos preliminares, as condições de irradiação como método de refrigeração, espessura da amostra, velocidade de escaneamento e taxa de repetição de pulso foram determinados. Quatro parâmetros do laser foram selecionados (A1, A2, B1 e B2), e avaliação adicional da taxa de ablação, aumento da temperatura e eficiência de ablação foi realizada através do preparo de cerca de 8 cavidades com cada parâmetro. As cavidades foram distribuídas aleatoriamente nas amostras, podendo uma única amostra conter cavidades preparadas com diferentes parâmetros do laser.

A espessura da amostra de 1 mm foi escolhida para a condução desses estudos, visto que, nestas condições, supostamente avaliar-se-ia a segurança do preparo de cavidades profundas a 1 mm de distância da polpa. A irradiação foi conduzida sem refrigeração, já que o *spray* de ar e água reduziu significativamente a taxa de ablação, e o ar comprimido levou a valores muito variáveis.

Os parâmetros do laser selecionados incluíram dois comprimentos de onda, 1045 nm e 1064 nm, com dois regimes diferentes de duração do pulso, femtossegundos e picossegundos, respectivamente. Para cada comprimento de onda, a maior potência de saída do laser foi selecionada, assim como a potência média que relacionasse taxa de ablação adequada e pouco aumento da temperatura. Coincidentemente, a potência de saída selecionada para o laser de picossegundos correspondeu a aproximadamente 10 vezes a potência de saída selecionada para o laser de femtossegundos. Este fato permitiu a avaliação de como o comprimento de onda influenciou o processo de ablação, bem como a interação com o substrato dental de cada duração do pulso. Os parâmetros do laser selecionados para os estudos adicionais são apresentados no Quadro 4.2. Os mesmos parâmetros foram utilizados para a análise da aderência da resina composta à dentina por meio do teste de microtração.

A velocidade de escaneamento máxima possível de 400 mm/s foi selecionada para a irradiação com laser de femtossegundos, enquanto a velocidade de escaneamento de 2000 mm /s foi utilizada para a irradiação com o laser de picossegundos. Os estudos preliminares mostraram que não houve carbonização para esta última velocidade, mesmo com as maiores densidades de energia. A taxa

de repetição de pulso do laser foi selecionada de forma a evitar excessiva distância entre cada pulso e presença de áreas não irradiadas, o que foi observado ao se utilizar taxas de repetição menores com alta velocidade de escaneamento. Da mesma forma, as taxas de repetição mais altas resultaram em sobreposição intensa de pulsos e, com isso, no aumento excessivo de temperatura e carbonização.

O aumento de temperatura para cada um dos parâmetros do laser está representado no gráfico 5.9, tanto para esmalte quanto para dentina. A taxa de ablação e a eficiência de ablação estão representadas no Gráfico 5.10 e no Gráfico 5.11, respectivamente. Os valores detalhados apresentados nos gráficos estão expostos na Tabela 5.1.

Gráfico 5.9 – O aumento de temperatura foi maior para o esmalte que para a dentina, com exceção do laser de ps com 2,9 W (B2), cujos valores foram maiores dentina. Para todos os outros parâmetros, a temperatura na parte inferior da amostra de dentina de 1 mm de espessura não atingiu o valor crítico de 5,6 °C, na qual o dano à polpa seria observado (66)

Gráfico 5.10 – A taxa de ablação foi maior para a dentina com todos os parâmetros testados. Para o mesmo comprimento de onda e duração de pulso, os valores variaram de acordo com a potência de saída, com maiores valores para potências superiores

Gráfico 5.11 – A eficiência de ablação (mm^3/J) representa o volume de substrato dental ablacionado para uma dada energia. Para o laser de fs, a eficiência de ablação não variou com a potência, indicando que comprimento de onda, duração de pulso e substrato são os aspectos mais importantes envolvidos no processo de ablação. Para os lasers de ps, no entanto, a eficiência de ablação variou de acordo com a potência, mostrando que ela também desempenha um papel importante no processo de ablação. A dentina foi ablacionada mais eficientemente que o esmalte, com todos os parâmetros utilizados, confirmando que o lasers de ps e fs ablacionam os substratos dentais seletivamente

Tabela 5.1 – Aumento de temperatura, taxa de ablação e eficiência de ablação observados para os parâmetros de irradiação selecionados

Grupos		Aumento de Temperatura [°C]	Taxa de Ablação [µm/pulso]	Eficiência de Ablação [mm³/J]
(A1) 0,15 W	Esmalte	4,5	0,48	0,017
	Dentina	3,1	0,94	0,034
(A2) 0,3 W	Esmalte	5,4	0,92	0,021
	Dentina	4,6	1,49	0,034
(B1) 1,5 W	Esmalte	6,1	0,16	0,004
	Dentina	3,7	0,85	0,022
(B2) 2,9 W	Esmalte	12,0	1,85	0,025
	Dentina	15,0	2,76	0,036

5.3 ADESÃO À DENTINA IRRADIADA

5.3.1 Ensaio de Microtração

Os dados obtidos no teste de microtração (MPa) foram analisados pelo teste de análise de variância de dois fatores (ANOVA) e pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, com nível de significância de 95%. As médias, desvios-padrão e coeficientes de variação foram calculados e estão expostos na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Valores do ensaio de microtração: média em MPa, (desvio padrão), coeficiente de variação (%)

	Clearfil SE Bond + Primer	Clearfil SE Bond - Primer	Adper S. Bond 2 + Ácido	Adper S. Bond 2 - Ácido
Controle	32,61 (2,97) 9%	32,32 (3,14) 10%	30,48 (5,14) 17%	5,71 (0,97) 17%
0,15 W	36,11 (3,28) 9%	39,08 (14,36) 37%	45,82 (7,56) 16%	26,21 (5,59) 21%
0,3 W	32,09 (1,04) 3%	54,10 (8,39) 17%	50,80 (8,09) 16%	31,84 (9,25) 29%
1,5W	29,68 (5,97) 20%	51,67 (1,79) 3%	58,30 (12,09) 21%	43,82 (8,95) 20%
2,9 W	37,51 (4,47) 12%	50,03 (10,68) 21%	43,94 (8,79) 20%	39,40 (9,79) 25%

Para a melhor ilustração da força de resistência à microtração para os tratamentos e protocolos de adesão utilizados, os resultados foram divididos em dois gráficos distintos. No Gráfico 5.12, os valores de microtração estão apresentados para cada tratamento de superfície (Controle, A1, A2, B1 e B2), com variação dos protocolos adesivos. No Gráfico 5.13, os valores de microtração estão apresentados para cada protocolo adesivo, com variação de tratamento de superfície.

Gráfico 5.12 - Resultados de resistência à microtração apresentados para cada tratamento de superfície com variação dos protocolos de adesão. Letras diferentes dentro de um mesmo tratamento de superfície indicam diferença estatística significativa entre os protocolos adesivos. Esta tabela não indica diferença entre os tratamentos de superfície, essas diferenças estão apresentadas no Gráfico 5.13

De acordo com os valores de resistência à microtração obtidos para cada tratamento de superfície (Gráfico 5.12), as amostras não irradiadas (Controle) apresentaram resultados semelhantes para os protocolos adesivos convencionais (CL + P e SB + A), bem como para Clearfil SE Bond sem aplicação prévia de Primer (CL - P) ($p > 0,05$). Os valores destes tratamentos foram significativamente maiores que o Single Bond sem condicionamento ácido (SB - A, $p < 0,0001$ para todas as comparações).

Para as amostras irradiadas com laser de femtossegundos com 0,15 W, os valores de SB - A foram estatisticamente inferiores a CL - P e SB + A ($p = 0,03$ e $p = 0,0004$, respectivamente), mas não a CL + P ($p > 0,05$). Estes três últimos tratamentos não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$). Quando o laser de femtossegundos foi usado com 0,3 W, os valores de CL - P e SB + A foram significativamente maiores que CL + P ($p = 0,0001$ e $p = 0,0008$, respectivamente) e SB - A ($p < 0,0001$ e $p = 0,0006$, respectivamente), mas foram semelhantes entre si ($p > 0,05$). CL + P e SB - A não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p > 0,05$).

Quando as amostras foram irradiadas com laser de picossegundos com 1,5 W, os valores de CL + P foram significativamente inferiores a CL - P ($p=0,0001$), SB + A ($p<0,0001$) e SB - A ($p=0,01$). Os valores de adesão de SB + A foram significativamente superiores a SB - A ($p=0,01$), mas não diferentes de CL - P ($p>0,05$). SB - A e CL - P não foram estatisticamente diferentes entre si ($p>0,05$). Quando laser de picossegundos com e 2,9 W foi utilizado, os valores de CL - P foram significativamente maiores que CL + P ($p=0,03$), mas não diferentes de SB + A e SB - A ($p=0,05$). Estes três últimos tratamentos não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre eles ($p>0,05$).

Gráfico 5.13 - Resultados de resistência à microtração apresentados para cada protocolo adesivo com variação dos tratamentos de superfície. Letras diferentes dentro dos protocolos adesivos indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos de superfície. Esta tabela não indica a diferença entre os protocolos adesivos, essas diferenças são apresentadas no Gráfico 5.12

A avaliação dos resultados de cada protocolo adesivo indica que o valor de adesão de CL + P não variou com o tratamento de superfície ($p>0,05$). Para todos os outros protocolos, o tratamento de superfície influenciou a adesão da resina à dentina.

Quando o Primer não foi utilizado para o Clearfil SE Bond (CL - P), as amostras não irradiadas apresentaram valores semelhantes a 0,15 W ($p>0,05$), mas

significativamente menores que os valores de 0,3 W ($p=0,0002$), 1,5 W ($p=0,0009$) e 2,9 W ($p=0,0035$). Estes três últimos não apresentaram diferença estatisticamente significante entre eles ($p>0,05$), porém, em virtude da maior variação dos valores obtidos para 0,15 W, estes pareceram numericamente inferiores, mas não apresentaram diferença estatística de 1,5 W e 2,9 W ($p>0,05$), apenas de 0,3 W ($p=0,01$).

O uso do Adper Single Bond 2 como recomendado pelo fabricante, com o condicionamento ácido prévio da dentina (SB + A), resultou em menores valores de união para amostras Controle que para as amostras irradiadas com laser, com 0,15 W ($p=0,009$), 0,3 W ($p=0,0004$), 1,5 W ($p<0,0001$), e 2,9 W ($p=0,04$). Os valores de adesão pareceram aumentar de acordo com a potência de saída, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre 0,15 W, 0,3 W e 1,5 W ($p>0,05$), apesar das variações numéricas. Os valores de adesão obtidos para 2,9 W foram significativamente menores que 1,5 W ($p=0,01$), mas não apresentaram diferença estatística de 0,15 W e 0,3 W ($p>0,05$).

Quando o condicionamento ácido não foi utilizado anteriormente à aplicação de Single Bond (SB - A), as amostras Controle apresentaram valores muito inferiores às amostras irradiadas, com 0,15 W ($p=0,0003$), 0,3 W ($p=0,0001$), 1,5 W ($p<0,0001$), e 2,9 W ($p=0,0001$). Os valores de 0,15 W foram significativamente menores do que 1,5 W ($p=0,002$) e 2,9 W ($p=0,04$), mas não apresentou diferença significativa a 0,3 W ($p=0,05$). Estes três últimos não foram estatisticamente diferentes entre si ($p>0,05$).

Os valores de resistência de união obtidos no ensaio de microtração indicam que a irradiação da dentina com laser de pulsos ultracurtos proporciona adesão superior ao Grupo Controle, dependendo dos parâmetros de irradiação utilizados. Essa superioridade foi observada tanto após a aplicação dos adesivos de maneira convencional, quanto através da adoção de um protocolo de aplicação modificado, com exclusão do passo de condicionamento prévio da superfície. Graças à grande variação dos valores de resistência de união de acordo com os parâmetros do laser e adesivos utilizados, não é possível afirmar que um sistema adesivo específico apresentou melhores resultados que outro, ou mesmo selecionar um parâmetro único do laser para estudos clínicos. No entanto, é possível afirmar que o Clearfil SE Bond sem Primer (CL - P) e o Single Bond com condicionamento ácido (SB + A) sempre apresentaram os maiores valores de união, independentemente do

parâmetro do laser selecionado. Para CL + P e SB - A, os valores foram maiores ou menores de acordo com tratamento de superfície. Da mesma forma, os valores de união para 0,3 W e 1,5 W estavam sempre entre os mais elevados, independentemente do sistema adesivo utilizado, enquanto os valores para 0,15 W e 2,9 W variaram de acordo com o tratamento de superfície.

Nenhuma falha pré-teste foi observada nas amostras irradiadas com laser, enquanto as amostras não irradiadas (Controle) apresentaram falhas pré-teste para SB - A apenas (7 falhas pré-teste de um total de 45 amostras). As amostras do Grupo Controle unidas com Adper Single Bond 2 sem condicionamento ácido prévio obtiveram valores estatisticamente menores que todos os outros protocolos adesivos. Os valores de união para essas amostras fraturadas antes do ensaio (0 MPa) não foram incluídos nos dados do ensaio de microtração.

As análise das superfícies fraturadas indicou que a falha adesiva das amostras foi a mais frequente, e representou 51% das fraturas observadas, seguida pela falha mista (46%), coesiva em resina (26%) e coesiva em dentina (1%) (Figura 18 A-D). Os modos de fratura observados em cada grupo estão expostos no Gráfico 5.14.

5.3.1 Estudo da interface adesiva

A interface adesiva entre a superfície dentinária tratada e resina composta foi avaliada em cada tratamento de superfície de acordo com o protocolo adesivo utilizado, e estão apresentadas na Figura 5.19 (Grupo Controle), Figura 5.20 (0,15 W), Figura 5.21 (0,3 W), Figura 5.22 (1,5 W) e Figura 5.23 (2,9 W).

Para o Grupo Controle, os *tags* de resina foram praticamente inexistentes para SB – A. Quando o Clearfil SE Bond foi utilizado sem o Primer (CL – P), *tags* de resina foram observados, mas se apresentaram em menor quantidade e extensão que CL + P. O uso do Primer antes do Clearfil permitiu a formação de *tags* mais longos, com selamento de canais laterais. Este selamento pareceu mais intenso para o grupo SB + A, indicado pela grande quantidade de *microtags* formados.

Para os grupos tratados com laser, os *tags* de resina se apresentaram de maneira semelhante para um mesmo protocolo adesivo utilizado. Nos grupos

irradiados que utilizaram condicionamento prévio (CL + P e SB + A), os *tags* e a superfície adesiva em contato com a dentina pareceram mais lisos, sugerindo que as irregularidades produzidas pelo laser na dentina foram total ou parcialmente amenizadas pela ação dos agentes condicionantes. Nos grupos sem condicionamento prévio (CL – P e SB – P), o adesivo em contato com a dentina mostrou-se bastante irregular, indicando que houve permeação das reentrâncias produzidas pelo laser. Além disso, a formação de *tags* foi observada em todos esses grupos. Os *tags* apresentados pelos grupos irradiados e com SB + A apresentaram *tags* mais longos e maior formação de *microtags* laterais, indicando o selamento dos canalículos laterais.

Figura 5.18 – Superfície fraturada dos palitos obtidos nos grupos experimentais: Adesiva (A), Mista (B) e Coesiva (C). A grande maioria das falhas adesivas apresentaram uma área recoberta pelo adesivo (D), exceto o grupo controle SB – A, para o qual as falhas adesivas apresentaram a superfície dentinária livre de adesivo (E)

Gráfico 5.14 – Análise do modo de fratura após o ensaio de microtração

Figura 5.19 – Grupo Controle. Interface adesiva do Grupo Controle com magnificações de 1000X e 5000X para Clearfil - Primer (A, B), Clearfil + Primer (C, D), Single Bond - Ácido (E, F), e Single Bond + Ácido (G, H). A imagens E e F foram obtidas em 500X e 1000X para ilustrar a extensa área sem *tags* de resina na interface adesiva para SB - A

Figura 5.20 – Laser de fs com 0,15 W. Interface adesiva com magnificações de 1000X e 5000X para Clearfil - Primer (A, B), Clearfil + Primer (C, D), Single Bond - Ácido (E, F), e Single Bond + Ácido (G, H)

Figura 5.21 – Laser de fs com 0,3 W. Interface adesiva com magnificações de 1000X e 5000X para Clearfil - Primer (A, B), Clearfil + Primer (C, D), Single Bond - Ácido (E, F), e Single Bond + Ácido (G, H)

Figura 5.22 – Laser de ps com 1,5 W. Interface adesiva com magnificações de 1000X e 5000X para Clearfil - Primer (A, B), Clearfil + Primer (C, D), Single Bond - Ácido (E, F), e Single Bond + Ácido (G, H)

Figura 5.23 – Laser de ps com 2,9 W. Interface adesiva com magnificações de 1000X e 5000X para Clearfil - Primer (A, B), Clearfil + Primer (C, D), Single Bond - Ácido (E, F), e Single Bond + Ácido (G, H)

6 DISCUSSÃO

A revolução da Odontologia Restauradora desde os tempos de cavidades geométricas de Black (1917) aterrisou na era das restaurações adesivas estéticas e da abordagem minimamente invasiva, para as quais técnicas inovadoras e materiais avançados são constantemente introduzidos (97). Estas técnicas conservadoras têm como objetivo não somente a remoção da estrutura dentária cariada, mas também o preparo das superfícies da cavidade para as restaurações adesivas (98). Assim, o objetivo principal deste estudo foi avaliar a possibilidade de introdução dos lasers de pulsos ultracurtos na Odontologia Restauradora, na tentativa de superar as desvantagens relativas às fontes de laser atualmente disponíveis, como o aumento da temperatura e a adesão prejudicada.

O uso dos lasers de Er:YAG e Er, Cr:YSGG para a remoção de tecido cariado e preparo cavitário vem sendo exaustivamente estudado, e a adoção crescente desta técnica vem se baseando nas inúmeras vantagens em relação ao preparo cavitário tradicional. Um dos fatores mais importantes é a ablação seletiva do tecido dental cariado, contribuindo significativamente para a abordagem conservadora da odontologia restauradora (73, 99). Da mesma forma, menor vibração e sensibilidade dolorosa durante a remoção de cárie e redução microbiana das estruturas dentais remanescentes estão relacionadas à ablação dental com os lasers de érbio, chamando a atenção de inúmeros pesquisadores (43, 51, 58-61).

Apesar dos inquestionáveis benefícios dos lasers de érbio para a remoção de tecido cariado, algumas desvantagens ainda são relacionados a essa técnica, resultando na sua contra-indicação por alguns autores (89). Esses fatores negativos se baseiam, principalmente, na baixa adesão da resina composta às superfícies dentais irradiadas.

Um estudo conduzido por Van Meerbeek et al. (79) avaliou as diferentes técnicas usadas atualmente para a intervenção minimamente invasiva em cárie. Os autores avaliaram a resistência de união de dois sistemas adesivos, um autocondicionantes e um “condicione e lave”, em superfícies preparadas com brocas de diamante de granulação média, polimento com lixa de SiC #600, sonoabrasão, jateamento e laser de Er:YAG. Os valores do teste de microtração indicam que as superfícies de esmalte e dentina jateadas ou irradiadas com o laser de Er:YAG

devem, necessariamente, ser condicionadas com ácido fosfórico previamente à aplicação do adesivo. Os substratos dentais tratados com jateamento ou sonoabrasão não apresentaram valores diferentes dos obtidos nos grupos tratados com broca. Por sua vez, a irradiação destas superfícies com Er:YAG resultou em valores de união à dentina e ao esmalte significativamente inferiores aos obtidos nos grupos tratados convencionalmente com broca. Este fato é atribuído ao aumento de temperatura causado pelo laser, que acaba por produzir microfissuras nas superfícies irradiadas.

Com a finalidade de avaliar o desempenho dos lasers de pulsos ultracurtos no preparo cavitário, diferentes comprimentos de onda e durações de pulso foram testadas. Os experimentos iniciais visaram observar a interação de cada comprimento de onda com o esmalte e a dentina, bem como verificar a existência de parâmetros de irradiação laser capazes de realizar o preparo cavitário de maneira eficiente, associando aumento de temperatura reduzido e morfologia de superfície adequada.

A variação dos parâmetros do laser, tais como comprimento de onda, velocidade de escaneamento da superfície e taxa de repetição do pulso, resultou em interações extremamente diferentes do laser com o substrato dental. O aumento de temperatura variou de menos de 5 °C a mais de 100 °C, e a morfologia de superfície abrangeu desde substratos carbonizados, até superfícies irradiadas com padrão morfológico microrretentivo potencialmente favorável à adesão.

Uma visão geral sobre a influência do comprimento de onda no processo de ablação indica que os lasers de pulsos ultracurtos no regime de picossegundos com 355 nm e 532 nm provocaram alteração extrema da morfologia de superfície, com áreas de deposição das partículas ablacionadas, assim como substratos derretidos e ressolidificados. O tecido dental parece ter sido intensamente modificado em profundidade, resultando em uma camada superficial porosa. Consequentemente, espera-se que a estrutura dental superficial esteja consideravelmente enfraquecida, e possa ser facilmente fraturada sob a ação de fatores químicos e mecânicos presentes no meio oral. Além disso, diversos poros são observados na superfície dental fusionada e ressolidificada, e estes parecem ter sido formados através do escape para a superfície de gases formados durante a fusão da estrutura. Essas alterações intensas na superfície dental resultou em aumento excessivo da temperatura, bem como na carbonização dos substratos irradiados com o laser de

ps de 355 nm. Apesar da ausência de carbonização, o laser de ps de 532 nm também provocou alteração excessiva da morfologia da superfície. Deste modo, os comprimentos de onda selecionados foram 1045 nm e 1064 nm. Quando determinados parâmetros de irradiação foram utilizados, essas fontes de laser proporcionaram uma superfície com padrão morfológico microrretentivo, que supostamente favorece sua união a restaurações adesivas. Além disso, quando estes parâmetros foram adotados, não houve carbonização da superfície ou fusão intensa, e a morfologia original do substrato foi preservada para ambos, esmalte e dentina.

A velocidade de escaneamento da superfície também influenciou significativamente o processo de ablação. Velocidades mais lentas levaram à sobreposição excessiva de pulsos e, portanto, carbonização e aumento intenso de temperatura foram observados. Assim, a velocidade máxima de escaneamento foi selecionada para a condução testes de resistência adesiva (400 mm/s para 1045 nm e 2000 mm/s para 1064 nm).

Todos os comprimentos de onda e durações de pulso testados resultaram em ablação seletiva dos tecidos dentais duros. Conforme observado nos perfis das cavidades e nos limiares de ablação obtidos, as taxas de ablação em dentina foram maiores que as taxas em esmalte. Este fato implica na possibilidade de se utilizar uma energia mais baixa para remover seletivamente tecido cariado ou substrato dentinário. Diferentemente da seletividade observada para os lasers de érbio, para os quais a taxa de ablação aumenta em substratos com maior teor de água por causa da afinidade do laser por este cromóforo, a ablação com lasers de pulsos ultracurtos não depende muito da qualidade do material retirado, mas principalmente da sua quantidade (100). Assim, os tecidos cariados apresentam menor densidade que a dentina, que, por sua vez, apresenta menor densidade que o esmalte. Assim, uma menor quantidade de material requer menos energia para que a sua ligação molecular seja rompida pela energia do laser e, consequentemente, ablacionada. Para substratos altamente densos e mineralizados como o esmalte, uma maior quantidade de energia é necessária para que a ablação ocorra. Essa seletividade também foi observada para um mesmo substrato, e parece ser causada pela presença de características variáveis nas diferentes áreas de uma mesma amostra. A ablação do esmalte foi maior próximo à interface com a dentina. A ablação da dentina foi maior quanto mais próxima ao centro da amostra, provavelmente devido

à abertura mais ampla dos túbulos dentinários nesta área, o que resultou em menor densidade da estrutura.

A avaliação da influência da espessura das amostras no processo de ablação indica que a espessura de 2 mm apresentou cavidades mais profundas em comparação com a de 1 mm, o que pode ser atribuído à distribuição de calor através da amostra. O calor em amostras com 1 mm de espessura parece ter propagado mais lateralmente, por causa da sua espessura limitada, levando a uma cavidade mais ampla, ao passo que amostras com 2 mm de espessura permitiram a distribuição do calor em profundidade, resultando nas cavidades mais profundas observadas.

O uso de refrigeração durante a irradiação não foi considerado para o teste de resistência adesiva à dentina. Os estudos preliminares mostraram que o *spray* de ar e água mantém a temperatura relativamente constante, porém influencia significativamente a taxa de ablação, diminuindo a efetividade do processo por absorver parte da energia incidente. A quantidade de água também foi importante, visto que o maior fluxo (9 mL/min) causou empoçamento sobre a amostra e reduziu drasticamente a taxa de ablação, além da imprevisível alteração da quantidade de água no *spray* levar à intensa variação da taxa de ablação. O ar comprimido diminuiu levemente a eficiência de ablação, supostamente por diminuir um pouco o aumento de temperatura. A irradiação a seco apresentou elevações de temperatura semelhantes ao ar comprimido, mas com a vantagem de apresentar uma eficiência de ablação mais elevada. Além disso, quando os quatro parâmetros selecionados foram irradiados a seco, as temperaturas permaneceram baixas em todas as análises, confirmando que um sistema de refrigeração adicional concomitantemente à irradiação com lasers de pulsos ultracurtos não é necessário.

As análises adicionais na Fase 2 dos quatro parâmetros selecionados na Fase 1 indicam que todos provocaram um aumento de temperatura de até 6,1 °C para o esmalte e 4,6 °C para a dentina, nas amostras com 1 mm de espessura, sem refrigeração durante a irradiação. Exceção foi observada para a maior potência do laser de picossegundos (2,9 W), para a qual a temperatura aumentou até 12 °C para o esmalte e 15 °C para a dentina. As taxas de ablação foram maiores para dentina que para esmalte, com todos os parâmetros testados, aumentaram com a potência ao se utilizar uma mesma duração de pulso. A eficiência de ablação se comportou de acordo com a duração de pulso. Para os lasers de femtossegundos, não houve diferença da eficiência de ablação entre esmalte e dentina, independentemente da

potência utilizada. Para os lasers de picossegundos, a eficiência de ablação aumentou com a potência, tanto para o esmalte quando para a dentina.

A adesão adequada ao substrato dental é obrigatório quando se objetiva um tratamento restaurador duradouro e de qualidade. Qualquer falha na interface adesiva acaba por permitir a infiltração de bactérias e seus produtos, bem como de fluidos orais nos espaços entre a superfície dental e a restauração. Este fato é de extrema importância, visto que pode levar ao desenvolvimento de cárie recorrente, além de hipersensibilidade e inflamação pulpar (20).

Visto que a adesão ao substrato dental vem se tornando a base da odontologia restauradora moderna, esforços imensuráveis são direcionados para melhor compreender os processos envolvidos na união de restaurações adesivas ao substrato dentinário. Estudos recentes têm sido realizados para reproduzir a interação entre as moléculas na interface adesiva em modelo digital 3D. Da mesma forma, a tentativa constante de melhorar os mecanismos atuais de adesão levou ao desenvolvimento de inúmeros sistemas adesivos, com os mais variáveis componentes e agentes de união. Todos esses esforços compartilham o objetivo de superar as deficiências ainda presentes na adesão ao substrato dentinário.

A adesão ao esmalte dental tem se mostrado bastante previsível e satisfatória desde a introdução da técnica de condicionamento ácido. Adversamente, a adesão à dentina condicionada ainda não conseguiu atingir seu estado ideal. Os sistemas adesivos “condicione e lave” esbarram na sensibilidade da técnica para a obtenção da umidade adequada da superfície dentinária. A fim de evitar o colapso da rede de colágeno, ou mesmo o excesso de água, diferentes adesivos contendo vários componentes e solventes foram introduzidas. Ainda assim essa questão permanece não solucionada. Mesmo os sistemas autocondicionantes, que foram desenvolvidos para excluir o problema da dentina excessivamente úmida ou seca, apresentaram problemas relacionados à penetração insuficiente da rede de colágeno exposta, ou até mesmo permeabilidade da camada adesiva devido à hidrofiliabilidade do primer.

Tal como foi recentemente relatado (101), a camada híbrida é considerada o elo mais fraco no mecanismo de adesão. Vários estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a ligação à superfície dentinária sem a hibridização. Esta técnica é baseada na aplicação de substâncias químicas capazes de remover a parte orgânica da superfície dentinária, na tentativa de obter uma adesão mais eficaz, com base na retenção micromecânica. Além de não serem conclusivas e apresentarem

resultados variáveis, essa técnica requer mais etapas clínicas, ou ainda o uso de substâncias de alta toxicidade.

O teste de microtração vem sendo progressivamente preferido para a análise da resistência adesiva, já que a área reduzida das amostras e a dinâmica peculiar destes testes resultam em menor probabilidade de inclusão de defeitos na área de interface, bem como na melhor distribuição das tensões na interface adesiva (102). Acredita-se que as falhas coesivas da amostra nos ensaios de microtração sejam menos frequentes, uma vez que estas resultam do alinhamento incorreto da amostra em relação ao eixo longitudinal do dispositivo de teste (102, 103), ou da introdução de microfissuras durante o preparo da amostra (104). Por esse motivo, alguns autores sugerem que os valores de união decorrentes de fraturas coesivas ou falhas pré-teste não deveriam ser incluídos nos dados gerais, uma vez que não representam a resistência adesiva especificamente (103). No entanto, estudos recentes têm mostrado que fraturas coesivas não ocorrem exclusivamente por causa de erros de teste, mas também na presença de uma estrutura enfraquecida produzida por determinados tratamentos de superfície, ou de acordo com as características dos substratos testados, como a profundidade da dentina (105). Assim, os valores de adesão obtidos nas amostras que apresentaram fratura coesiva foram igualmente incluídos no presente estudo, já que estas poderiam ser um sinal de enfraquecimento do substrato pela irradiação do laser. De fato, um estudo prévio avaliando a adesão da resina à dentina irradiada com laser de Er:YAG mostrou que falhas coesivas em dentina foram freqüentes no grupo tratado com laser, visto que o aumento excessivo de temperatura resultou em alterações e trincas na dentina subsuperficial. O estudo demonstrou que os lasers de Er:YAG e Er,Cr:YSGG influenciaram negativamente a adesão (106). No presente estudo, as falhas coesivas foram pouco observadas, sendo a falha adesiva a mais frequente (51% das amostras), seguida pela falha mista (46%).

Os valores de resistência à microtração obtidos indicam que a irradiação da dentina com lasers de pulsos ultracurtos causaram adesão semelhante ou superior ao Grupo Controle, tanto com a aplicação da técnica adesiva convencional, quanto com a aplicação de protocolos adesivos modificados. Em decorrência da considerável variação dos valores de resistência adesiva em função dos parâmetros do laser e do adesivo utilizado, não é possível afirmar que um sistema adesivo específico apresentou melhores resultados que outro, ou selecionar um único

parâmetro do laser para ser introduzido clinicamente. No entanto, é possível afirmar que o Clearfil SE Bond sem Primer (CL -P) e o Adper Single Bond 2 com condicionamento ácido (SB + A) sempre apresentaram maiores valores de adesão, independentemente do tratamento de superfície. Para os dois outros grupos, CL - P e S + A, os valores foram maiores ou menores de acordo com tratamento de superfície. Da mesma forma, os valores de adesão de 0,3 W e 1,5 W estavam sempre entre os valores mais elevados, independentemente do sistema adesivo utilizado, enquanto valores de 0,15 W e 2,9 W variaram de acordo com tratamento de superfície.

Para o Grupo Controle não irradiado, protocolos adesivos convencionais apresentaram valores de união em conformidade com a literatura (107). A interface adesiva observada também corrobora com o que foi descrito anteriormente, com *tags* de resina mais curtos para o sistema Clearfil SE Bond e *tags* de resina mais longos para superfícies condicionadas com ácido e unidas com Single Bond. Para o Grupo Controle, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de união obtidos com Clearfil SE Bond e com Single Bond, quando ambos foram utilizados de acordo com o fabricante. Como já relatado na literatura, o comprimento dos *tags* de resina não influenciam a resistência adesiva, de modo que maiores valores de união podem por vezes ser observados com os menores *tags* de união do Clearfil SE Bond (108).

Surpreendentemente, as amostras controle não irradiadas unidas sem o uso do Primer antes do Clearfil SE Bond apresentaram valores de união tão altos quanto os observados nas amostras que receberam o Primer previamente. Como adesivo Clearfil SE Bond foi aplicado na superfície dentinária coberta por *smear layer*, o adesivo parece ter agido na dissolução dessa camada de esfregaço, de modo que *tags* de resina foram formados e valores semelhantes de união foram obtidos. Esse fato é perceptível ao se observar o padrão dos *tags* de resina obtidos no grupo CL - P, que são mais curtos e menos numerosos que aqueles obtidos quando o Primer é aplicado anteriormente. Essa ação do adesivo do Clearfil SE Bond diretamente sobre a superfície dentinária pode estar relacionada ao monômero fosfatado MDP presente na composição deste adesivo. Além de promover a adesão química entre adesivo e hidroxiapatita, a molécula do MDP possui características ácidas, que podem justificar essa ação expressiva do MDP sobre a *smear layer*, permitindo, inclusive, a formação de *tags* (109).

Convencionalmente, quando o Primer do sistema Clearfil SE Bond é aplicado sobre a superfície dentinária, este remove minerais da estrutura dentária e permeia através da rede de colágeno exposta, sendo posteriormente polimerizado. O comprimento dos *tags* de resina são, portanto, determinados pela profundidade da dentina condicionada pelo Primer, bem como pela extensão da penetração deste no substrato dentinário. O adesivo é posteriormente aplicado diretamente sobre o Primer, tendo menor influência na estrutura dentinária. Assim, a chave da união com adesivos autocondicionantes parece estar relacionado ao Primer, cujas características bivalentes permitem tanto a hibridização da dentina através de sua porção hidrofílica, quando a sua união ao adesivo através de sua porção hidrofóbica. Quando o Primer não foi utilizado para o grupo CL - P, o adesivo do sistema Clearfil SE Bond foi aplicado diretamente sobre a camada de esfregaço. Mesmo assim, este foi capaz de penetrar no substrato dentinário. As características ácidas do MDP podem, supostamente, ter formado uma leve hibridização da superfície dentinária. Porém, detalhes destas características, bem como o uso direto do adesivo contendo MDP sobre a dentina não foram relatados na literatura. Portanto, estudos adicionais da interface adesiva com microscopia eletrônica de transmissão são necessários para que a hipótese de uma leve hibridização superficial seja confirmada.

A ausência de hibridização através da aplicação direta do adesivo do sistema Clearfil SE Bond à superfície dentinária não condicionada independentemente da presença de *smear layer* é também uma hipótese possível. Além de promover o imbricamento micromecânico através da formação de camada híbrida, esse sistema autocondicionante mostrou promover a interação química entre o MDP presente no Primer e no adesivo e a hidroxiapatita residual da dentina condicionada. Assim, os adesivos autocondicionantes com primers leves são responsáveis por um condicionamento suave do substrato dentinário, fazendo com que a hidroxiapatita residual presente na rede de colágeno se ligue ao MDP presente na composição do Primer. De acordo com o fabricante, assim como o Primer, o adesivo do sistema Clearfil SE Bond também contém o MDP em sua composição. Desse modo, os valores mais elevados de resistência adesiva observados quando o adesivo foi usado diretamente sobre a dentina não condicionada podem decorrer desta interação entre MDP e hidroxiapatita. Esse fato é de extrema importância, e poderia representar a exclusão de uma etapa clínica nos procedimentos de adesão, e os problemas relacionados à adesão ao substrato dentinário poderia ter uma solução

em potencial, porque, na ausência de exposição de colágeno, não há risco de permeação incompleta da rede de colágeno e formação de fendas, tampouco do colapso das fibrilas colágenas por causa de uma secagem excessiva. No entanto, a condução de um estudo longitudinal seria necessária para avaliar a durabilidade da interface adesiva obtida com este protocolo. Este fato é muito importante, uma vez que, curiosamente, não há relato na literatura sobre o uso de Clearfil SE Bond sem o uso anterior de Primer, de forma que o sistema adesivo foi desenvolvido para ser utilizado desta forma, o efeito somente do adesivo em dentina é desconhecido.

Considerando que o uso do adesivo Single Bond diretamente sobre a superfície dentinária não condicionada apresentou valores extremamente baixos de união, os valores elevados obtidos com o adesivo Clearfil SE Bond sem Primer parecem realmente estar relacionados ao MDP em sua composição, visto que este não está presente no Single Bond. A interface adesiva observada para as amostras do grupo SB- A não irradiadas indicam a ausência de interação entre o adesivo e o substrato coberto por *smear layer*. Não houve penetração do adesivo nos túbulos dentinários, e o descolamento da interface adesiva pode ser observado.

Quando o adesivo Clearfil SE Bond foi aplicado sem Primer em superfícies irradiadas livres de camada de esfregaço, a adesão foi consideravelmente maior, provavelmente devido à superfície extremamente rugosa produzida pelos lasers. Neste caso, a adesão resultou tanto do fator químico do MDP presente no adesivo, assim como observado no Grupo Controle sem laser, quanto do imbricamento mecânico produzido pela penetração do adesivo nas irregularidades da superfície irradiada. De fato, quando estes dois fatores estão presentes, os valores são mais elevados que quando apenas o fator químico do adesivo estava presente (Grupo Controle). Exceção foi observada no grupo do laser de fs com 0,15 W, que não diferiu do Grupo Controle e da irradiação com os lasers de picossegundos com 1,5 W e 2,9 W. Possivelmente, a potência não foi suficientemente alta para causar a rugosidade adequada, resultando em valores de união variáveis, conforme indicado pelo alto desvio-padrão neste grupo. Assim, estas amostras podem, eventualmente, apresentar as áreas que foram, por vezes, semelhante ao Grupo Controle, e outras vezes, semelhantes ao padrão obtido com a irradiação. A interface adesiva deve ser estudada mais detalhadamente para verificar, como mencionado acima, se houve hibridação da superfície, ou interação química entre as moléculas somente. Na ausência de hibridação, o mecanismo de adesão seria semelhante ao obtido no

esmalte, quando os elevados valores de resistência adesiva são atribuídos ao imbricamento mecânico do adesivo com a superfície dental.

Quando o Single Bond foi utilizado sem condicionamento ácido prévio, o imbricamento mecânico parece ter sido o único mecanismo de adesão. O Grupo Controle, no qual o adesivo foi aplicado diretamente sobre a camada de esfregaço, mostrou adesão extremamente baixa, significativamente menor que os grupos tratados com laser. Ambos os grupos tratados com laser de femtossegundos apresentaram resultados semelhantes, mas 0,3 W foi numericamente superior a 0,15 W, indicando uma tendência para a maior adesão relacionada ao aumento da rugosidade. Para os grupos com *smear layer* e relativamente baixo padrão de rugosidade produzido pelo laser (femtossegundos), a diferença entre os grupos CL - P e SB - A foi significativa, indicando que a adesão baseada na hibridização obtida com o SB - A foi menor que a adesão obtida no CL - P, que foi baseada neste mesmo imbricamento, mas que teve um fator químico que causou sua melhor adesão. Quando a rugosidade superficial foi maior, esta parece ter superado o diferencial proporcionado pelo fator químico do adesivo. Isso pode ser observado para os grupos laser de ps, nos quais uma nanorugosidade foi produzida na superfície (Figura 5.14), e resultou em maior rugosidade que o laser de fs. Essa alta rugosidade parece ter sido um importante fator de adesão, visto que não há diferença entre CL - P e S - A, tanto para 1,5 W quanto para 2,9 W.

Quando essas amostras altamente rugosas e com forte adesão principalmente através de imbricamento, como descrito acima, recebem o Primer ou o ácido previamente, os resultados são consideravelmente alterados. Nessas amostras, a aplicação do Primer antes do adesivo levou à queda representativa dos valores de adesão. Isso parece acontecer pelo fato do Primer condicionar a superfície de modo a amenizar as rugosidades produzidas pelo laser e, novamente, a adesão passa a ser baseada no quanto o Primer infiltrou e hibridizou a dentina, não havendo mais uma influência decisiva da rugosidade. Isso pode ser observado para 0,3 W, 1,5 W e 2,9 W. Com o uso do Primer, os valores de adesão obtidos nessas amostras se iguala aos obtidos no Grupo Controle, quando a superfície apresentava *smear layer* inicialmente, e ao grupo 0,15 W, no qual a baixa energia não altera muito a rugosidade. Portanto, para o uso do Clearfil SE Bond com Primer, não houve diferença entre os grupos experimentais, pois qualquer diferença parece ter sido neutralizada pelo condicionamento do Primer. Quando o Primer não foi

utilizado, baixas rugosidades como as do Grupo Controle e do 0,15 W tiveram valores semelhantes. Para as maiores rugosidades, quando o Primer não foi utilizado e não amenizou as alterações, os valores foram significativamente maiores que com Primer (Gráfico 5.12). Pode-se inferir que a adesão por imbricamento obtida na ausência do Primer seja maior que a adesão baseada na hibridização promovida pelo Primer. Isso pode ser exemplificado pela diferença entre esmalte e dentina, na qual a adesão à dentina, baseada na hibridização, é inferior à adesão ao esmalte, baseada no imbricamento. Os maiores valores para CL - P para maiores rugosidades podem ser vistos no Gráfico 5.13. A alta variação do grupo 0,15 W pode ter resultado na ausência de diferença entre este e os grupos 1,5 W e 2,9 W, apesar dos valores numericamente maiores obtidos nestes últimos.

Quando o condicionamento ácido foi realizado previamente à aplicação do Single Bond, os menores valores de adesão são observados para o Grupo Controle. Essa adesão é baseada exclusivamente no condicionamento e hibridização, sem inclusão de imbricamento mecânico. Todos os grupos irradiados apresentaram valores maiores de adesão para SB + A que o controle. Esse fato é de extrema importância, visto que até hoje na literatura, a adesão à dentina irradiada só apresentou valores semelhantes ou inferiores ao controle, mas nunca superiores. Isso era atribuído ao aumento excessivo de temperatura, que causava denaturação das fibras colágenas e impedia a ocorrência adequada da hibridização (54). Por esse motivo, mesmo usando o ácido, a permanência dessa subsuperfície danificada acabava mantendo os baixos valores de adesão, levando, muitas vezes, à contra-indicação do uso do laser por diversos autores. Os laser de pulsos ultracurtos mostraram ablacionar efetivamente o tecido dental duro, sem causar aumento excessivo de temperatura.

Para os grupos irradiados, a diferença de superfície em relação ao Grupo Controle está na rugosidade aumentada e na ausência de *smear layer* no momento da aplicação do ácido. Deste modo, enquanto o ácido no Grupo Controle deve atuar primeiramente na *semar layer*, para depois condicionar o substrato dental, o ácido aplicado sobre o tecido irradiado é utilizado diretamente para o condicionamento da superfície e exposição das fibras colágenas. Portanto, sugere-se que a adesão dos grupos irradiados esteja relacionada ao condicionamento mais profundo da dentina irradiada, com maior extensão da hibridização, além da potencialização da adesão

pelo imbricamento mecânico conseguido pela penetração do adesivo nas rugosidades produzidas pelos lasers.

Os valores de adesão com SB + A não foram diferentes entre 0,15, 0,3 e 1,5. O grupo 2,9 W foi semelhante a 0,15 W e 0,3 W, mas significativamente menor que 1,5 W. A justificativa para esse fato requer estudos adicionais relacionados à qualidade da fibra colágena após cada parâmetro, bem como do padrão da hibridização conseguido. Porém, com base nas comparações e nos resultados obtidos, pode-se inferir que a rugosidade tenha uma influência sobre os valores de adesão com SB + A. Nesse caso, dois fatores estariam relacionados, a camada híbrida e o imbricamento mecânico. De fato, o Grupo Controle apresentou os menores valores de adesão.

Entretanto, quando uma energia maior foi utilizada (2,9 W), apesar da grande rugosidade produzida, o aumento de temperatura foi consideravelmente maior que nos demais grupos. Neste caso, apesar da rugosidade favorecer a adesão, uma possível alteração das fibrilas colágenas pode ter resultado nos menores valores para o grupo 2,9 W. Eles valores não se diferiram dos valores obtidos nos grupos 0,15 W e 0,3 W, nos quais a adesão foi baseada na hibridização, com menor rugosidade. Pode-se admitir que essa semelhança tenha se baseado na compensação da alta rugosidade e comprometimento das fibras colágenas para o grupo 2,9 W, pela baixa rugosidade e boa hibridização dos grupos 0,15 W e 0,3 W. O grupo 1,5 W apresentou valores superiores a 2,9 W por apresentar ambos, boa hibridização e alta rugosidade, mas não se diferenciou dos grupos que apresentavam boa hibridização e menor rugosidade, implicando que, para a adesão com Single Bond, a hibridização possa exercer maior influência que a rugosidade.

Os valores de resistência à microtração obtidos ao se utilizar os lasers de pulsos ultracurtos resultou em um padrão morfológico microrretentivo, que dispensou o condicionamento da superfície quando os parâmetros corretos foram utilizados, para ambos os sistemas adesivos testados. Este estudo representa uma pequena porção dos diversos fatores que devem ser verificados antes que essa técnica possa ser transformada em realidade clínica. Outros estudos para a avaliação da influência da duração de pulso na adesão em longo prazo devem ser conduzidos, bem como a análise dos efeitos do laser nos tecidos dentais duros *in situ* e *in vivo*. Adicionalmente, a adaptação dos lasers em peças de mão, de maneira a permitir a sua aplicação na clínica odontológica, ainda precisa ser realizado, e

deve considerar os aspectos financeiros e de custo/benefício para se tornarem comercialmente viáveis ao cirurgião-dentista.

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste estudo, pode-se afirmar que os lasers de pulsos ultracurtos apresentaram resultados favoráveis ao preparo cavitário e morfologia da superfície em dentina e esmalte. Adesão à dentina irradiada foi superior à superfície tratada tradicionalmente quando parâmetros adequados de irradiação foram utilizados. Assim, os lasers de pulsos ultracurtos são considerados uma técnica promissora para a promoção da abordagem minimamente invasiva.

REFERÊNCIAS¹

1. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res. 1955 Dec;34(6):849-53.
2. Buonocore MG. Principles of Adhesive Retention and Adhesive Restorative Materials. J Am Dent Assoc. 1963 Sep;67:382-91.
3. Brudevold F, Buonocore M, Wileman W. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. J Dent Res. 1956 Dec;35(6):846-51.
4. Bowen RL. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. II. Bonding to dentin promoted by a surface-active comonomer. J Dent Res. 1965 Sep-Oct;44(5):895-902.
5. Gwinnett AJ, Matsui A. A study of enamel adhesives. The physical relationship between enamel and adhesive. Arch Oral Biol. 1967 Dec;12(12):1615-20.
6. Buonocore MG, Matsui A, Gwinnett AJ. Penetration of resin dental materials into enamel surfaces with reference to bonding. Arch Oral Biol. 1968 Jan;13(1):61-70.
7. Dentin bonding systems: an update. Council on Dental Materials, Instruments, and Equipment. J Am Dent Assoc. 1987 Jan;114(1):91-5.
8. Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. J Dent Res. 1979 Apr;58(4):1364-70.
9. Vojinovic O, Nyborg H, Brannstrom M. Acid treatment of cavities under resin fillings: bacterial growth in dentinal tubules and pulpal reactions. J Dent Res. 1973 Nov-Dec;52(6):1189-93.
10. Stanley HR, Going RE, Chauncey HH. Human pulp response to acid pretreatment of dentin and to composite restoration. J Am Dent Assoc. 1975 Oct;91(4):817-25.

¹ De acordo com Estilo Vancouver

11. Jennings RE, Ranly DM. Autoradiographic studies of ^{32}P penetration into enamel and dentin during acid etching. *ASDC J Dent Child*. 1972 Jan-Feb;39(1):69-71.
12. Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc*. 2000 Jun;131 Suppl:20S-5S.
13. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*. 1982 May;16(3):265-73.
14. Marshall GW, Jr. Dentin: microstructure and characterization. *Quintessence Int*. 1993 Sep;24(9):606-17.
15. Gwinnett AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. *Am J Dent*. 1993 Feb;6(1):7-9.
16. Kanca J, 3rd. Wet bonding: effect of drying time and distance. *Am J Dent*. 1996 Dec;9(6):273-6.
17. Gwinnett AJ. Dentin bond strength after air drying and rewetting. *Am J Dent*. 1994 Jun;7(3):144-8.
18. Kanca J, 3rd. Resin bonding to wet substrate. II. Bonding to enamel. *Quintessence Int*. 1992 Sep;23(9):625-7.
19. Nakabayashi N, Pashley D. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence; 1998.
20. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J*. 2005 Mar;24(1):1-13.
21. Garberoglio R, Brannstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*. 1976;21(6):355-62.
22. Shimada Y, Tagami J. Effects of regional enamel and prism orientation on resin bonding. *Oper Dent*. 2003 Jan-Feb;28(1):20-7.

23. Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD. Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1978;23(9):807-10.
24. Tyas MJ, Burrow MF. Adhesive restorative materials: a review. *Aust Dent J.* 2004 Sep;49(3):112-21; quiz 54.
25. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater.* 2005 Sep;21(9):864-81.
26. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003 May-Jun;28(3):215-35.
27. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res.* 2005 Feb;84(2):118-32.
28. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CK. Water treeing in simplified dentin adhesives--deja vu? *Oper Dent.* 2005 Sep-Oct;30(5):561-79.
29. Brackett WW, Covey DA, St Germain HA, Jr. One-year clinical performance of a self-etching adhesive in class V resin composites cured by two methods. *Oper Dent.* 2002 May-Jun;27(3):218-22.
30. Burrow MF, Tyas MJ. Clinical evaluation of an 'all-in-one' bonding system to non-carious cervical lesions--results at one year. *Aust Dent J.* 2003 Sep;48(3):180-2.
31. Hume WR. Influence of dentine on the pulpward release of eugenol or acids from restorative materials. *J Oral Rehabil.* 1994 Jul;21(4):469-73.
32. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater.* 2001 Jul;17(4):296-308.
33. Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater.* 2001 Sep;17(5):430-44.

34. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 2004 Jun;83(6):454-8.
35. Peumans M, Cardoso MV, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RCR, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Effect of smear layer interposition on the bonding effectiveness of adhesives to dentin. *GR Cons* 2006;4(1):239.
36. Swift EJ, Jr., Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int*. 1995 Feb;26(2):95-110.
37. Titley K, Chernecky R, Chan A, Smith D. The composition and ultrastructure of resin tags in etched dentin. *Am J Dent*. 1995 Oct;8(5):224-30.
38. 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 Aug;71(8):1530-40.
39. Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res*. 1993 Feb;72(2):495-501.
40. Harnirattisai C, Inokoshi S, Shimada Y, Hosoda H. Adhesive interface between resin and etched dentin of cervical erosion/abrasion lesions. *Oper Dent*. 1993 Jul-Aug;18(4):138-43.
41. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Tyas MJ. Micromorphological study of resin-dentin interface of non-carious cervical lesions. *Oper Dent*. 2002 Sep-Oct;27(5):493-9.
42. Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res*. 1994 Jun;73(6):1212-20.
43. Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry--a review. *FDI Commission Project 1-97. Int Dent J*. 2000 Feb;50(1):1-12.
44. Maiman T. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*. 1960;187:493-4.

45. Goldman L, Gray JA, Goldman J, Goldman B, Meyer R. Effect of Laser Beam Impacts on Teeth. *J Am Dent Assoc.* 1965 Mar;70:601-6.
46. Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the Laser on Dental Caries. *Nature.* 1964 Jul 25;203:417.
47. Kinersly T, Jarabak JP, Phatak NM, Dement J. Laser Effects on Tissue and Materials Related to Dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1965 Mar;70:593-600.
48. Gordon TE, Jr. Laser interactions with extracted human teeth: a preliminary report. *Dent Dig.* 1966 Apr;72(4):154-8.
49. Adrian JC, Bernier JL, Sprague WG. Laser and the dental pulp. *J Am Dent Assoc.* 1971 Jul;83(1):113-7.
50. 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.
51. 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.
52. Bader C, Krejci I. Indications and limitations of Er:YAG laser applications in dentistry. *Am J Dent.* 2006 Jun;19(3):178-86.
53. 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.
54. Ceballo L, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Marshall GW. Bonding to Er-YAG-laser-treated dentin. *J Dent Res.* 2002 Feb;81(2):119-22.
55. 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.

56. Lee BS, Lin PY, Chen MH, Hsieh TT, Lin CP, Lai JY, Lan WH. Tensile bond strength of Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin and analysis of dentin-resin interface. *Dent Mater.* 2007 May;23(5):570-8.

57. Altshuler GB, Belikov AV, Sinelnik YA. A laser-abrasive method for the cutting of enamel and dentin. *Lasers Surg Med.* 2001;28(5):435-44.

58. Cozean C, Arcoria CJ, Pelagalli J, Powell GL. Dentistry for the 21st century? Erbium:YAG laser for teeth. *J Am Dent Assoc.* 1997 Aug;128(8):1080-7.

59. 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.

60. Dostalova T, Jelinkova H, Kucerova H. Er:YAG laser ablation-evaluation after two-years long clinical treatment. *Proc SPIE* 1998;3248:23-32.

61. Gouw-Soares S, Gutknecht N, Conrads G, Lampert F, Matson E, Eduardo CP. The bactericidal effect of Ho:YAG laser irradiation within contaminated root dentinal samples. *J Clin Laser Med Surg.* 2000 Apr;18(2):81-7.

62. Carvalho RCR, Otsuki M, Eduardo CP, Tagami J. Influence of Er:YAG laser beam angle, working distance, and energy density on dentin morphology: an SEM investigation. *J Oral Laser Applications.* 2005:237-43.

63. 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.

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

65. Hoke JA, Burkes EJ, Jr., Gomes ED, Wolbarsht ML. Erbium:YAG (2.94 μm) laser effects on dental tissues. *J Laser Appl.* 1990 Summer-Fall;2(3-4):61-5.

66. Zach L, Cohen G. Pulp Response to Externally Applied Heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965 Apr;19:515-30.

67. Eversole LR, Rizioiu IM. Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium YSGG laser. *J Calif Dent Assoc.* 1995 Dec;23(12):41-7.
68. Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc.* 2000 Jun;131(6):777-85.
69. 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.
70. Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. *J Oral Rehabil.* 2003 May;30(5):515-21.
71. Yu DG, Kimura Y, Kinoshita J, Matsumoto K. Morphological and atomic analytical studies on enamel and dentin irradiated by an erbium, chromium:YSGG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 2000 Jun;18(3):139-43.
72. Rizioiu I, Kohanghadosh F, Kimmel AI, Eversole LR. Pulpal thermal responses to an erbium,chromium: YSGG pulsed laser hydrokinetic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998 Aug;86(2):220-3.
73. 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.
74. Kinoshita J, Kimura Y, Matsumoto K. Comparative study of carious dentin removal by Er,Cr:YSGG laser and Carisolv. *J Clin Laser Med Surg.* 2003 Oct;21(5):307-15.
75. 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 Jun;77(6):1404-14.
76. De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci.* 2002 Aug;110(4):322-9.

77. 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.
78. Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelic N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. *Lasers Surg Med.* 2004;35(2):111-6.
79. Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch&rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Oper Dent.* 2003 Sep-Oct;28(5):647-60.
80. Harashima T, Kinoshita JI, 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. *Photomedicine and Laser Surgery.* 2005 Feb;23(1):52-5.
81. de Oliveira MT, de Freitas PM, de Paula Eduardo C, Ambrosano GM, Giannini M. Influence of Diamond Sono-Abrasion, Air-Abrasion and Er:YAG Laser Irradiation on Bonding of Different Adhesive Systems to Dentin. *Eur J Dent.* 2007 Jul;1(3):158-66.
82. Kimura Y, Wilder-Smith P, Arrastia-Jitosho AM, Liaw LH, Matsumoto K, Berns MW. Effects of nanosecond pulsed Nd: YAG laser irradiation on dentin resistance to artificial caries-like lesions. *Lasers Surg Med.* 1997;20(1):15-21.
83. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Microleakage of composite resin restoration in cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation and etched bur cavities in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent.* 2002 Spring;26(3):263-8.
84. Bispo LB. Condicionamento do esmalte com Er:YAG laser e ácido fosfórico: resistência à tração e microscopia eletrônica de varredura. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2000.
85. Eduardo CP, Bello-Silva MS, Ramalho KM, Lopes RMG, Freitas PM. Laser assisted re-established of canine guidance: esthetic and functional reconstruction of worn canines. *International Magazine of Laser Dentistry.* 2009;2:16-9.
86. Corona SA, de 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.

87. 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.

88. Cardoso MV, De Munck J, Coutinho E, Ermis RB, Van Landuyt K, de Carvalho RC, Van Meerbeek B. Influence of Er,Cr:YSGG laser treatment on microtensile bond strength of adhesives to enamel. *Oper Dent.* 2008 Jul-Aug;33(4):448-55.

89. Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RC, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Influence of Er,Cr:YSGG laser treatment on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adhes Dent.* 2008 Feb;10(1):25-33.

90. Goulielmakis E, Schultze M, Hofstetter M, Yakovlev VS, Gagnon J, Uiberacker M, Aquila AL, Gullikson EM, Attwood DT, Kienberger R, Krausz F, Kleineberg U. Single-cycle nonlinear optics. *Science.* 2008 Jun 20;320(5883):1614-7.

91. Niemz MH. Cavity preparation with the Nd:YLF picosecond laser. *J Dent Res.* 1995 May;74(5):1194-9.

92. Neev J, Lee JP. Two-lasers assisted ablation: a method for enhancing conventional laser ablation of materials. *Lasers Surg Med.* 1996;19(2):130-4.

93. Kim BM, Eichler J, Da Silva LB. Frequency doubling of ultrashort laser pulses in biological tissues. *Appl Opt.* 1999 Dec 1;38(34):7145-50.

94. Lizarelli RF, Kurachi C, Misoguti L, Bagnato VS. A comparative study of nanosecond and picosecond laser ablation in enamel: morphological aspects. *J Clin Laser Med Surg.* 2000 Jun;18(3):151-7.

95. Pike P, Parigger C, Splinter R, Lockhart P. Temperature distribution in dental tissue after interaction with femtosecond laser pulses. *Appl Opt.* 2007 Dec 1;46(34):8374-8.

96. Lizarelli RF, Kurachi C, Misoguti L, Bagnato VS. Characterization of enamel and dentin response to Nd:YAG picosecond laser ablation. *J Clin Laser Med Surg.* 1999 Jun;17(3):127-31.

97. Peters MC, McLean ME. Minimally invasive operative care. II. Contemporary techniques and materials: an overview. *J Adhes Dent*. 2001 Spring;3(1):17-31.
98. Setien VJ, Cobb DS, Denehy GE, Vargas MA. Cavity preparation devices: effect on microleakage of Class V resin-based composite restorations. *Am J Dent*. 2001 Jun;14(3):157-62.
99. Gimble C, Hansen R, Swett A, Winn D, Pelagalli J, Cozean C. Er:YAG clinical studies for hard tissue applications. 4th International Congress on Lasers in Dentistry. 1995:267-71
316.
100. Kim BM, Feit MD, Rubenchik AM, Joslin EJ, Celliers PM, Eichler J, Da Silva LB. Influence of pulse duration on ultrashort laser pulse ablation of biological tissues. *J Biomed Opt*. 2001 Jul;6(3):332-8.
101. Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, Wang Y, Bohaty BS, Singh V, Sene F, Eslick J, Camarda K, Katz JL. Adhesive/Dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Ann Biomed Eng*. Jun;38(6):1989-2003.
102. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994 Jul;10(4):236-40.
103. Cho BH, Dickens SH. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. *Dent Mater*. 2004 Feb;20(2):107-15.
104. Sadek FT, Monticelli F, Muench A, Ferrari M, Cardoso PE. A novel method to obtain microtensile specimens minimizing cut flaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 Jul;78(1):7-14.
105. Inoue S, Pereira PN, Kawamoto C, Nakajima M, Koshiro K, Tagami J, Carvalho RM, Pashley DH, Sano H. Effect of depth and tubule direction on ultimate tensile strength of human coronal dentin. *Dent Mater J*. 2003 Mar;22(1):39-47.
106. Moretto SG, Azambuja-Jr N, Giannini M, Arana-Chavez VE, Reis AF, Eduardo CP, Freitas PF. Ultramorphological analysis and microtensile bond strength of

Er:YAG and Er,Cr:YSGG irradiated dentin. Dubai: Congress of the World Federation for Laser Dentistry; 2010.

107. Sarr M, Kane AW, Vreven J, Mine A, Van Landuyt KL, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B, De Munck J. Microtensile bond strength and interfacial characterization of 11 contemporary adhesives bonded to bur-cut dentin. *Oper Dent*. Jan-Feb;35(1):94-104.

108. Lohbauer U, Nikolaenko SA, Petschelt A, Frankenberger R. Resin tags do not contribute to dentin adhesion in self-etching adhesives. *J Adhes Dent*. 2008 Feb;10(2):97-103.

109. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007 Sep;28(26):3757-85.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade RWTH Aachen

**ETHIK-KOMMISSION AN DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER RHEINISCH-WESTFÄLISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE AACHEN**
Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen - Tel. 0241-80 89 963 – FAX 0241-80 82 012
E-Mail: ekaachen@ukaachen.de

Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät
der RWTH Aachen – Pauwelsstr. 30 – D - 52074 Aachen

Aachen, den 09.03.2010

Frau
Marina Stella Bello Silva
Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie
und präventive Zahnheilkunde
Im Hause

Schmal/mue

Betreff:

EudraCT-Nr.:	-
Protokoll-Nr.:	-
Titel:	Einfluss von Pulslänge auf Morphologie und adhäsiven Widerstand von Dentin und Zahnschmelz bei Abtragung durch Hochintensitätslaser.
Sponsor:	-
Antragsteller:	Marina Stella Bello Silva, Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und präventive Zahnheilkunde, Universitätsklinikum der RWTH Aachen Pauwelsstraße 30, 52074 Aachen
LKP:	-
Lokaler Hauptprüfer:	Marina Stella Bello Silva, s. o.
Internes Aktenzeichen:	EK 035/10

Hier: Stellungnahme

Sehr geehrter Frau Dr. Bello Silva,

Vielen Dank für Ihr Schreiben vom 23.02.10 und vom 09.03.2010 – Eingang in der Geschäftsstelle der Ethik-Kommission am 23.02.10 und am 09.03.2010 – mit dem Sie um Stellungnahme zu der von Ihnen geplanten in-vitro-Untersuchung an menschlichen Weisheitszähnen bitten.

Eine Antragstellung zu dem von Ihnen geplanten Versuchsvorhaben ist nicht notwendig, da Sie versichern, dass die verwendeten Gewebeproben im Rahmen von Routineeingriffen entnommen, mit Zustimmung der Patienten verwendet und anonymisiert von Ihnen bearbeitet werden. Die Patienten sollten ihre Einwilligung zur Forschung an ihrem Gewebe erteilen, diese Erlaubnis sollte dokumentiert werden. Die von Ihnen hierzu eingereichten Unterlagen wurden durch die Ethik-Kommission geprüft.

Es bestehen keine Bedenken aus ethischer und berufsrechtlicher Sicht hinsichtlich des Forschungsvorhabens.

Die eingereichten Unterlagen wurden nicht im Rahmen einer Sitzung, sondern im Auftrag der Ethik-Kommission satzungsgemäß im vereinfachten Verfahren durch den Vorsitzenden und den stellv. Vorsitzenden der Ethik-Kommission bewertet. Viel Erfolg bei Ihrem Forschungsvorhaben.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. G. Schmalzing
Vorsitzender

Prof. Dr. med. U. Büll
Stellv. Vorsitzender

Die Ethik-Kommission ist nach Landesrecht konstituiert und bei den zuständigen Landesbehörden, beim Bundesamt für Arzneimittel (BfArM) sowie beim Bundesamt für Strahlenschutz (BfS) registriert. Sie berät unabhängig nach den Regeln des Weltärztebundes in der Deklaration von Helsinki über Forschung am Menschen in der Fassung von 1996 in Somerset West, nach nationalen Gesetzen, Vorschriften und der ICH-GCP-Leitlinie in der jeweils gültigen Fassung (siehe Homepage der Ethik-Kommission unter www.ethikkommission.ukaachen.de).

ANEXO B – Aprovação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER Nº 855/09

Registro CONEP 15649 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

FR – 219547

Processo nº 25000.613501/2009-28

Projeto de Pesquisa: *"Avaliação da qualidade de união entre a resina composta e a dentina irradiada com laser de Er: YAG – Análise da ultraestrutura, microtração e nanoinfiltração".*

Pesquisador Responsável: Dr. Carlos de Paula Eduardo

Instituição: Faculdade de Odontologia da USP - FOU SP (ÚNICO CENTRO BRASILEIRO)

CEP de origem: Faculdade de Odontologia da USP - FOU SP

Área Temática Especial: Pesquisa com cooperação estrangeira

Patrocinador: CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior

Sumário geral do protocolo

Os atuais conceitos de adesão têm preconizado a realização de procedimentos minimamente invasivos e restaurações conservadoras em dentes que sofreram perda de parte de sua estrutura dental devido, principalmente, às lesões de cárie ou trauma.

O principal objetivo da restauração adesiva é promover um selamento efetivo e duradouro dos tecidos duros dentais. A adesão a um substrato vital e úmido como a dentina tem apresentado limitações, uma vez que a fase mineral do substrato deve ser completamente ou parcialmente removida e substituída por um adesivo, que deverá permear a camada superficial rica em colágeno e, após a polimerização, formar a camada híbrida. O ataque ácido é empregado previamente aos procedimentos adesivos com a finalidade de remover o magma dentinário e facilitar a atividade do sistema adesivo. Porém, a manutenção da permeabilidade da trama colágena após o condicionamento ácido é crítica, devido, principalmente, à dificuldade da técnica em relação à secagem da superfície.

Diferentes tratamentos relacionados ao condicionamento da superfície previamente à adesão vêm sendo propostos, visando aperfeiçoar a técnica já empregada. O do laser de Er:YAG (2,94 µm) varia de acordo com a composição e quantidade de água presente no substrato (esmalte, dentina e osso), tornando a ação do laser precisa, segura e minimamente invasiva.

Os efeitos do laser de Er:YAG na ultraestrutura da dentina ainda não foram completamente estudados e descritos na literatura, bem como o efeito de possíveis tratamentos destas superfícies irradiadas e suas consequências na união de sistemas adesivos às estruturas dentais.

Este estudo *in vitro* tem como objetivos: Fase 1 - avaliar, em microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), a subsuperfície dentinária após a irradiação com diferentes parâmetros do laser de Er:YAG, determinando, ultramorfologicamente, seus efeitos no conteúdo orgânico da dentina; Fase 2 - avaliar, após diferentes tratamentos (laser de Er:YAG, condicionamento ácido, tratamento com hipoclorito de sódio e sistemas adesivos) e diferentes tempos de armazenagem, a qualidade de união entre a dentina irradiada e a resina composta, através do ensaio de microtração e da nanoinfiltração em microscopia eletrônica de transmissão.

Serão utilizados 76 dentes terceiros molares humanos cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), e com a concordância do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da mesma Instituição, conforme

Cont. Parecer CONEP nº 855/2009

determinação da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil.

FASE 1 – Preparo dos espécimes: Os 12 dentes selecionados permanecerão armazenados em solução de timol a 1%, por período máximo de três meses após a data de extração. Após a limpeza, os dentes serão seccionados com a finalidade de se obter discos de dentina de aproximadamente 03 mm de espessura. Em cada fatia de dentina será realizada uma secção no sentido vestibulo-lingual, gerando 02 espécimes semelhantes, que serão divididos aleatoriamente em 04 grupos.

O fator em estudo nesse experimento será o tratamento da superfície de dentina em 4 níveis (sem irradiação e irradiação com laser de Er:YAG com 3 durações de pulso). A variável de resposta será a avaliação da ultraestrutura dentinária em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), e da profundidade de alteração da subsuperfície em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Análise em Microscopia Eletrônica de Transmissão: Serão utilizadas as 3 amostras remanescentes de cada grupo experimental.

FASE 2 – Avaliação da qualidade de união (Preparo dos espécimes): Sessenta e quatro dentes terceiros molares humanos serão selecionados e permanecerão armazenados em solução de timol a 1%, por período máximo de três meses após a extração. A limpeza será realizada conforme descrito na Fase 1. Os espécimes selecionados serão irrigados com hipoclorito de sódio a 5% durante 15 segundos e, posteriormente, lavados com água da seringa triplice. A secagem será feita de acordo com as indicações dos fabricantes dos sistemas adesivos, sendo que dois sistemas adesivos foram selecionados, sendo um autocondicionante (Clearfil SE Bond/Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Japão), e outro com condicionamento ácido prévio (Single Bond 2, 3M ESPE, Saint Paul, MN, EUA). Ambos serão aplicados de acordo com as instruções do fabricante. Serão 8 espécimes de dentina por subgrupo.

A justificativa do estudo apresentada no projeto de pesquisa, visa não somente a utilização de um equipamento de alta tecnologia encontrado somente na instituição alemã, mas também o estreitamento dos laços científicos e a consolidação de uma parceria para produção intelectual entre ambas as Universidades. A realização deste estudo como parte do Programa de Doutorado Sanduíche da doutoranda Marina Stella Bello Silva contribuirá definitivamente para o seu desenvolvimento acadêmico e pessoal, e a qualificação da aluna certamente será revertida em benefícios para a sua instituição de origem, a Universidade de São Paulo.

Local de realização

Trata-se de um projeto nacional e multicêntrico. Além do Brasil, a Alemanha participará do estudo em tela.

A fase inicial do estudo (preparo das amostras e estudos piloto) será realizada na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e os experimentos serão finalizados no laboratório na *RWTH Uniklinikum*, na Universidade de Aachen (*RWTH – Aachen*), Alemanha (página 16, numeração do CEP).

Apresentação do protocolo

Os currículos da pesquisadora responsável e do orientador da mesma demonstram que os mesmos estão aptos a condução do estudo em tela.

Consta Declaração da CAPES explicitando os valores para a bolsa de estudos no exterior, tais como: 12 parcelas de EUR1100,00 a partir de abril de 2009. Auxílio instalação, no valor de EUR1200,00 que será pago em reais antes da partida da pesquisadora. Pagamento de auxílio de seguro saúde no valor de EUR840,00 para o período da concessão da bolsa, cujo equivalente em reais será pago no Brasil antes da partida e passagem aérea

Cont. Parecer CONEP nº 855/2009

trecho: São Paulo/Aachen e vice-versa (página 28, numeração do CEP). Na página 34 (numeração do CEP), o total do orçamento apresentado é de R\$ 20.605,50.

O projeto em tela se refere ao projeto de doutorado de Marina Stella Belo, sob orientação do Dr. Carlos de Paula Eduardo, pelo departamento de Dentística da FOU SP, em conjunto com a Universidade de Aachen, Alemanha (Doutorado Sanduíche). Na Alemanha, a aluna será orientada pelo prof. Friedrich Lampert (página 25, numeração do CEP). A pesquisadora responsável (página 47, numeração do CEP) informa que "o Banco de Dentes estabeleceu procedimentos de pré-autorização para uso desses elementos dentários quando do seu recebimento e a isenção do TCLE teve seu mérito avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FOU SP, considerando-se que os espécimes serão submetidos aplicação de adesivos, aplicação de laser, a ensaios mecânicos e de avaliação de nanoinfiltrações, sob a supervisão da pesquisadora brasileira, não sendo submetidos a outros ensaios, biológicos ou genéticos. E ainda, a pesquisadora assumiu o compromisso de cuidar da destruição e descarte das amostras após a finalização dos experimentos".

Consta "Declaração do Banco de Dentes Humanos", assinada pelo Coordenador geral do mesmo (José Carlos Pettorossi Imparato) em Setembro de 2008, informando que após a aprovação do CEP, serão oferecidos 76 dentes terceiros molares para a execução do estudo em tela (página 27, numeração do CEP).

Comentários/Considerações

1. Quanto a Folha de Rosto:

- a. Na folha de rosto consta que o projeto é internacional, contudo o projeto refere-se a projeto de doutorado da USP e participação de Instituição alemã, portanto trata-se de projeto nacional com cooperação estrangeira. Solicita-se adequação.
- b. Não foi identificado o cargo de quem assina pela Instituição onde o estudo será realizado.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento das questões acima, antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Brasília, 04 de dezembro de 2009.

Gyselle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS