



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

GABRIELA DA SILVA CHAGAS

**INFLUÊNCIA DO LASER DE Er:YAG NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO
DE RESTAURAÇÕES DIRETAS EM DENTES PREVIAMENTE
CLAREADOS**

2024

GABRIELA DA SILVA CHAGAS

**INFLUÊNCIA DO LASER DE Er:YAG NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE
RESTAURAÇÕES DIRETAS EM DENTES PREVIAMENTE CLAREADOS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Dentística. Linha de pesquisa: Avaliação clínica e laboratorial de alterações da estrutura dental, de materiais e técnicas de prevenção e tratamento em dentística.

Orientador: Prof. Associado César Rogério Pucci

São José dos Campos

2024

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2024]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Chagas, Gabriela da Silva

Influência do laser de Er:YAG na resistência de união de restaurações diretas em dentes previamente clareados / Gabriela da Silva Chagas. - São José dos Campos : [s.n.], 2024.
96 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2024.

Orientador: Cesar Rogério Pucci.

1. Dentina. 2. Laser. 3. Clareamento. 4. Resistência à tração. I. Pucci, Cesar Rogério, orient. II. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - UNESP. IV. Universidade Estadual Paulista (UNESP). V. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESSA PESQUISA

Com esta pesquisa, propôs-se avaliar a capacidade da irradiação da superfície dentinária com laser de Er:YAG em anular os efeitos deletérios imediatos do procedimento clareador na resistência de união de restaurações. A longevidade das restaurações impacta diretamente na interrupção do ciclo restaurador repetitivo, no bem-estar e na saúde bucal dos pacientes.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

With this research, it was proposed to evaluate the ability of irradiation of the dentin surface by the Er:YAG laser to nullify the immediate deleterious effects of the bleaching procedure on the bond strength of direct restorations. The longevity of restorations directly impacts the interruption of the repetitive restorative cycle, the well-being and oral health of patients.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Assoc. César Rogério Pucci (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof^a. Assoc. Taciana Marco Ferraz Caneppele

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof^a. Dr^a. Karen Cristina Kazue Yui

Mestrado e Doutorado em Odontologia Restauradora pela

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Pós Doutorado pelo ICT Unesp de São José dos Campos

São José dos Campos, 27 de fevereiro de 2024.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe **Maria das Graças da Silva Chagas**, por ser o exemplo de pessoa guerreira, inteligente e ética em quem me espelho e por ter papel fundamental na minha formação e me inspirar no amor pela ciência e educação. Sem você, nenhum desses passos fariam sentido para mim. Carrego seu exemplo comigo onde eu for.

Ao meu pai **Vicente Nei Chagas**, por plantar no meu coração o desejo de cursar Odontologia. Sei que sempre foi o sonho dele ser dentista, então sinto que cada etapa da minha formação é um sonho que realizamos juntos.

À minha irmã **Tatiana da Silva Chagas**, por ser minha melhor amiga e meu laço fraternal nessa vida. Por todo apoio emocional, incentivo e momentos compartilhados, sendo eles felizes e difíceis. Estarei sempre presente por você.

À minha avó materna **Maria José Lima Guedes da Silva**, por ter sido muito além de uma avó para mim. Foi minha amiga, confidente e companheira. Por todo incentivo e suporte na minha educação e todos os sábios conselhos de vida. À minha avó paterna **Maria Tereza Amâncio Chagas**, pela sua garra, força e por ter feito minhas memórias da infância tão felizes. Sinto a falta de vocês todos os dias.

Às minhas queridas tias **Maria José, Márcia e Inez**, por todo suporte, memórias felizes e conselhos. Obrigada por todo incentivo na minha educação, sem o apoio de vocês o caminho teria sido muito mais árduo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus**, por me amparar e cuidar de cada detalhe do meu caminho. Os meus sonhos só se tornam possíveis porque sei que tomas conta de mim.

À minha **família**, por todo suporte, carinho e incentivo. Amo cada membro dessa grande e expansiva família.

Agradeço a todos meus **amigos**, por entenderem minha ausência em tantos momentos e por respeitarem e acolherem minhas escolhas.

Ao meu orientador, **Prof. Assoc. César Rogério Pucci**, por me dar a oportunidade de aprender com ele e me orientar com tanta empatia. Obrigada também por toda paciência, atenção e confiança. Agradeço ainda por todos os conselhos, por me incentivar a ir atrás dos meus sonhos e a acreditar em mim mesma. Toda minha a gratidão pela sua orientação.

À **Profa. Assoc. Taciana Marco Ferraz Caneppele** pelos bons momentos de trabalho compartilhados juntas na clínica, pela disposição em ensinar e pelo aceite do convite em ser minha banca. Uma pessoa por quem nutro imensa simpatia, admiração profissional e pessoal, carinho e respeito.

À **Profa. Dra. Karen Cristina Kazue Yui**, por toda dedicação na arte de ensinar, pela generosidade, carinho e bom convívio. Uma pessoa muito querida por mim, com quem tive uma sincera afinidade desde o início. Obrigada por fazer parte da minha trajetória e aceitar ser minha banca examinadora.

À **Profa. Dra. Tânia Mara da Silva**, por todas as conversas e conselhos, por ser tão atenciosa e generosa comigo, por todos os dias juntas de trabalho na clínica e pré-clínica, fazendo esses dias mais leves.

Ao **Prof. Assoc. Eduardo Bresciani** por tornar a rotina na Universidade mais leve, de forma alegre e divertida, pelo incentivo na busca dos alunos pelos seus sonhos e por mostrar que competência e diversão podem coexistir. Obrigada por toda contribuição na minha formação.

Aos **Professores. Assoc. Alessandra Bühler Borges e Prof. Titular Carlos Rocha Gomes Torres**, pelo bom convívio nas docências da disciplina de Dentística 1, pela paciência e por todo exemplo de competência profissional.

Aos demais professores do departamento, **Prof. Titular Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves, Profa. Dra. Maria Filomena Rocha Huhtala, Profa. Assoc. Mariane Mailart, Profa. Assoc. Daniele Silva Ávila e Profa. Dra. Natália Cortez Gutierrez** eu agradeço pelos aprendizados passados, pelos conselhos, boas conversas, boa convivência e dias agradáveis de trabalho juntos. Pessoas muito competentes e admiradas, com quem tive o prazer de aprender. Obrigada por tudo.

À **Profa. Dra. Maria Jacinta Santos**, por me receber de braços abertos na University of Western Ontario e me proporcionar a experiência de aprender com ela, sendo minha mentora nos dias de pesquisa no Canadá. Obrigada pela oportunidade, foi um prazer e uma honra conviver com uma profissional tão competente.

Aos professores de graduação, **Ricardo Vaz, Herbert Hauieisen, Wallison Vasconcelos, Rodrigo Albuquerque, Mônica Yamauti, Ivana Diniz, Thaís Suzuki, Maria Luiza, Allyson Nogueira e Claudia Silami** que me guiaram até aqui com maestria, paciência, dedicação e excelência. São muitos anos se dedicando à construção de profissionais para atuar servindo a população da melhor forma possível e me sinto honrada por ter aprendido com cada um de vocês. Em especial, à **Profa. Adj. Viviane Elisângela Gomes**, pela primorosa orientação no meu trabalho de conclusão de curso e por todos conselhos acadêmicos e de vida. Obrigada por ter me acolhido e escolhido para trabalhar com você. Uma honra ter sido sua aluna.

Às minhas amigas de pós-graduação e da vida, **Maria Aparecida Holanda e Roseli Freitas** que dividiram comigo muitos momentos e me ajudaram diversas vezes, na pesquisa e na vida pessoal, da forma mais generosa, sem nunca esperar nada em troca. Nunca vou me esquecer do tamanho do coração de vocês. Obrigada pela amizade, foi um presente e uma sorte grande encontrar vocês nessa jornada.

Aos meus amigos de pós-graduação e também da vida **Victor Bottesini**, minha dupla de atendimento clínico, sempre paciente e generoso, e **Douglas Ferreira** por

toda ajuda e todos os momentos felizes compartilhados. Guardo vocês no meu coração. Obrigada por tudo.

Às minhas amigas de orientação, pela parceria e união do nosso grupo. À **Amanda Matuda**, pela cumplicidade e amizade. Obrigada por me salvar tantas vezes me mostrando o caminho certo a seguir, pelas conversas e pela doçura com que me acolheu no nosso grupo de pesquisa. À **Marcella Batista**, que compartilha comigo as alegrias e dificuldades da pesquisa, além de ser um ombro amigo e uma companhia alegre e divertida. À **Raquel Pinto** e **Ana Paula Mafetano** pela boa convivência no tempo que estivemos juntas e pela recepção no grupo de pesquisa.

Ao **Luis Felipe**, por toda ajuda, de forma tão generosa e pela amizade que construímos. Feliz em ter te conhecido nesse caminho. Ao **Rafael Mendonça**, **Pedro Caio**, **Jefferson Junior**, **Taiana Padro** e **Matheus Costa** pela ajuda nos tantos momentos que tive dúvidas.

Agradeço também aos amigos de pós-graduação **Letícia Nazário**, **Victor Ruano**, **Juliana Benace**, **Luana Souza** e **Ítalo Carvalho** por todos os momentos juntos, pelas risadas e pela boa convivência. Uma alegria compartilhar essa jornada com vocês.

Às alunas de graduação e iniciação científica, **Vivian**, **Laura**, **Beatriz** e **Letícia**, por toda contribuição na confecção desse trabalho e por todo auxílio no laboratório.

Agradeço a todos os **funcionários** da Unesp, que permitem o funcionamento da instituição com sua dedicação e compromisso. Cada prestador de serviço tem seu papel fundamental no crescimento da instituição e todos tem minha admiração de forma genuína. Em especial, agradeço às técnicas de laboratório **Bianca**, **Evelyn**, **Gabriela** e **Josiane**, ao técnico **Eduardo** e à secretária do departamento, **Liliane**.

Aos **pacientes** do ICT-Unesp, por contribuírem para o meu aprendizado e crescimento.

À Faculdade de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – UNESP, por sua excelência, grandiosidade e renome. Tenho muito orgulho de fazer parte dessa casa.

Ao Programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal, em especial ao Departamento de Odontologia Restauradora.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001, pela concessão da bolsa de mestrado e amparo na minha permanência na pós-graduação.

Ao programa de Internacionalização da CAPES PrInt, pela oportunidade concedida a mim de colaborar e aprender em uma outra Instituição de Ensino, em outro país, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal.

À Secretaria de Pós-Graduação por todo suporte aos alunos.

À Schulich School of Medicine and Dentistry - University of Western Ontario por me receber como aluna e ser minha casa durante três meses de intercâmbio.

A todos que participaram de forma direta ou indireta na minha formação, desde o início e que ajudaram a moldar a profissional que me torno a cada dia, meu muito obrigado!

“A ciência mais útil é aquela cujo fruto é o mais comunicável”.

Leonardo da Vinci

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	Reflexão Total Atenuada
Er:YAG	Érbio-Ítrio-Alumínio-Granada
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
MCVL	Microscopia Confocal de Varredura a Laser
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMP	Metaloproteinases de Matriz

RESUMO

Chagas GS. Influência do laser de Er:YAG na resistência de união de restaurações diretas em dentes previamente clareados [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2024.

O objetivo do estudo foi avaliar a influência do laser Er:YAG sobre a superfície dentinária na resistência de união e na atividade das MMPs de restaurações diretas feitas em dentes previamente clareados. Adicionalmente, foram feitas análises do padrão de fratura, análise por MEV da estrutura dentinária e da composição química por FTIR após os diferentes tratamentos. Para o teste de microtração foram utilizados incisivos bovinos hígidos (n=90), que tiveram o esmalte da face vestibular desgastados em politriz circular até a exposição da dentina. As amostras foram divididas em seis grupos, de acordo com o tipo de tratamento, onde: CP: controle positivo (nenhum tratamento); CN: controle negativo (clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%); L1: laser Er:YAG (250mJ; 20Hz; 5W); L2: laser Er:YAG (250mJ; 30Hz; 7,5W); CL1: clareamento e laser Er:YAG (250mJ; 20Hz; 5W); e CL2: clareamento e laser Er:YAG (250mJ; 30Hz; 7,5W). Os espécimes de todos os grupos foram então restaurados com um adesivo universal de forma autocondicionante, sob pressão pulpar simulada de 15 cm de H₂O. O padrão de fratura dos espécimes foi analisado em estereomicroscópio, e os que apresentaram falha adesiva foram analisados em MEV. Espécimes aleatórios de cada grupo (n=5) foram separados para análise em MCVL para rastrear a atividade enzimática das MMPs pela técnica de zimografia *in situ*. Espécimes adicionais (n=18) foram levados ao FTIR para análise dos componentes químicos da dentina. Os dados de resistência de união foram analisados estatisticamente quanto a sua normalidade e homocedasticidade e como esses não seguiram distribuição normal, o teste de Kruskal-Wallis e teste post-hoc de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner foram conduzidos. Os dados de resistência de união mostraram diferenças significativas para os diferentes grupos testados (p<0,001), sendo os valores em MPa apresentados em mediana e valor interquartil (1º - 3º quartis): CP (33,0 [31,8;34,5])^A, CN (17,3 [12,5;18,6])^C, L1 (32,5 [30,1;34,4])^A, L2 (26,2 [21,1;31,3])^B, CL1 (31,2 [27,5;32,6])^{AB} e CL2 (28,5 [20,4; 30,6])^B. As imagens de MEV revelaram que as superfícies dentinárias irradiadas com laser apresentaram aparência irregular, com túbulos dentinários expostos, sem camada de esfregaço. O padrão de fratura predominante entre os grupos foi a falha adesiva. Na análise por MCVL pela técnica de zimografia *in situ* foi confirmado o potencial do laser de inibição das MMPs. Os dados foram analisados quanto a sua normalidade e os testes ANOVA a um fator e teste post-hoc de Tukey (5%) foram empregados: CP 69.6 ± 0.876^A, L2 86.5 ± 2.159^B, L1 95.2 ± 2.621^C, CL2 108.6 ± 0.837^D, CL1 116.7 ± 4.138^E e CN 208.1 ± 1.208^F. A análise por FTIR mostrou intensidades de pico reduzidas de substâncias inorgânicas, entretanto a posição e a morfologia dos picos permaneceram inalteradas. O laser Er:YAG na densidade de energia de 25J/cm² se mostrou capaz de anular os efeitos deletérios do clareamento, inibir a atividade das MMPs em dentes clareados e de alterar a composição química da dentina sob pressão pulpar simulada.

Palavras-chave: dentina; laser; clareamento; resistência à tração.

ABSTRACT

Chagas GS. Influence of the Er:YAG laser on the bond strength of direct restorations in previously bleached teeth [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2024.

The aim of the study was to evaluate the influence of the Er:YAG laser on the dentin surface on the bond strength and activity of MMPs of direct restorations made in previously bleached teeth. Furthermore, analyzes of the fracture pattern, SEM analysis of the dentin structure and chemical composition by FTIR were carried out after the different treatments. For the microtraction test, healthy bovine incisors ($n=90$) were used, which had the enamel on the buccal surface worn away in a circular polisher until the dentin was exposed. The samples were divided into six groups, according to the type of treatment, where: CP: positive control (no treatment); CN: negative control (bleaching with 35% hydrogen peroxide); L1: Er:YAG laser (250mJ; 20Hz; 5W); L2: Er:YAG laser (250mJ; 30Hz; 7,5W); CL1: whitening and Er:YAG laser (250mJ; 20Hz; 5W); and CL2: whitening and Er:YAG laser (250mJ; 30Hz; 7,5W). The specimens from all groups were then restored with a universal adhesive in a self-etching manner, under simulated pulp pressure of 15 cm of H₂O. The failure pattern of the specimens was analyzed under a stereomicroscope, and those that showed adhesive failures were analyzed under SEM. Random specimens from each group ($n=5$) were separated for MCVL analysis to track the enzymatic activity of MMPs using the *in situ* zymography technique. Additional specimens ($n=18$) were taken to the FTIR for analysis of the chemical components of dentin. The bond strength data were statistically analyzed for normality and homoscedasticity and as they did not follow a normal distribution, the Kruskal-Wallis test and the Dwass-Steel-Critchlow-Fligner post-hoc test were performed. Bond strength data showed significant differences between the different groups tested ($p<0.001$), with MPa values presented as median and interquartile value (1st - 3rd quartile): CP (33,0 [31,8;34,5])^A, CN (17,3 [12,5;18,6])^C, L1 (32,5 [30,1;34,4])^A, L2 (26,2 [21,1;31,3])^B, CL1 (31,2 [27,5;32,6])^{AB} and CL2 (28,5 [20,4; 30,6])^B. SEM images revealed that the laser-irradiated dentin surfaces had an irregular appearance, with exposed dentinal tubules, without smear. The predominant fracture pattern between groups was adhesive failure. In the analysis of MCVL using the *in situ* zymography technique, the potential of the laser to inhibit MMPs was confirmed. Data were analyzed for normality and one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test (5%) were used: CP 69.6 ± 0.876^A , L2 86.5 ± 2.159^B , L1 95.2 ± 2.621^C , CL2 108.6 ± 0.837^D , CL1 116.7 ± 4.138^E and CN 208.1 ± 1.208^F . FTIR analysis showed reduced peak intensities of organic and inorganic substances, but the position and morphology of the peaks remained unchanged. The 25 J/cm² Er:YAG laser was shown to be capable of nullifying the deleterious effects of bleaching, inhibiting the activity of MMPs in bleached teeth and altering the chemical composition of dentin under simulated pulp pressure.

Keywords: dentin; laser; whitening; tensile bond strength.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Adesão à dentina.....	18
2.2 Efeitos do clareamento na estrutura dental	26
2.3 Laser na Odontologia Restauradora.....	32
2.4 Pressão pulpar simulada	35
3 PROPOSIÇÃO	39
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.1 Aspectos éticos	40
4.2 Delineamento do estudo	40
4.2.1 Variáveis de resposta.....	41
4.3 Delineamento amostral	41
4.4 Materiais utilizados.....	41
4.4.1 Divisão dos grupos experimentais	43
4.4.2 Preparo dos espécimes	44
4.4.3 Tratamento clareador	45
4.4.4 Preparo dos espécimes na politriz.....	47
4.4.5 Tratamento da dentina com laser de Er:YAG.....	48
4.4.6 Simulação da pressão pulpar	50
4.4.7 Técnica restauradora	51
4.4.8 Seleção das amostras para o teste de resistência de união	52
4.4.9 Teste de resistência de união.....	53
4.4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	56
4.4.11 Atividade das metaloproteínases de matriz por Zimografia <i>in situ</i>	57
4.4.12 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)..	58
4.5 Delineamento estatístico	59
4.5.1 Hipóteses nulas testadas.....	60

5 RESULTADOS	61
5.1 Resistência de união à microtração.....	61
5.2 Padrão de Fratura.....	64
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	66
5.4 Atividade das Metaloproteinases de Matriz (Zimografia <i>in situ</i>)	70
5.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	75
6 DISCUSSÃO	78
6.1 Discussão da Metodologia	78
6.2 Discussão dos Resultados	80
7 CONCLUSÃO	86
REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, uma crescente procura por tratamentos estéticos visando alcançar padrões impostos pela sociedade tem sido notada. O clareamento dental é um procedimento que se destaca dentre as intervenções estéticas na Odontologia por satisfazer as expectativas dos pacientes na obtenção de dentes mais claros e por suas técnicas pouco invasivas e de simples execução (Spyrides et al., 1998).

Para a realização do procedimento clareador, o peróxido de hidrogênio é o composto mais utilizado atualmente e sua popularidade é advinda de sua eficiência e baixo custo (Schemehorn, Novak, 2007). Quando em alta concentração (35%), o peróxido de hidrogênio é utilizado para procedimentos em consultório, com curto período de exposição do gel ao substrato dentário, enquanto em baixa concentração (7,5%) esse composto é utilizado na técnica de clareamento caseiro, supervisionado pelo dentista, com um período prolongado de exposição (Sun et al., 2011). O baixo peso molecular do peróxido de hidrogênio permite que sua penetração nos espaços interprismáticos do esmalte e túbulos dentinários seja facilitada, garantindo assim, sua permeabilidade e eficácia (Thiesen et al., 2013).

O clareamento é um procedimento frequentemente indicado pelos cirurgiões-dentistas antes de restaurações estéticas e, apesar de ser uma técnica pouco invasiva, se comparada a procedimentos estéticos que envolvem desgaste da estrutura dental sadia, a literatura demonstra que agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio podem afetar a resistência de união de materiais restauradores à estrutura dental (Dirshman et al., 1994; Potočnik et al., 2000).

A alteração da força de união da resina composta ao dente submetido ao tratamento clareador ocorre devido a incorporação de oxigênio (O_2) nas estruturas dentais, advindo da reação de oxirredução dos componentes dos agentes clareadores, que neutralizam a reação de fotopolimerização do adesivo e da resina (Titley et al., 1988). A queda na força de união de restaurações realizadas após o clareamento se torna um inconveniente na prática restauradora quando a espera pelo período de evaporação do oxigênio residual advindo do gel clareador não pode ser respeitada, comprometendo a longevidade das restaurações e a estética de

dentes anteriores (Titley et al., 1992; Unlu et al., 2008).

A neutralização do O_2 residual ocorre entre o 7º e 14º dia após o procedimento clareador (Cavalli et al, 2001; Da Silva Machado et al., 2007; Dishman et al., 1994; Unlu et al., 2008; Swift, 2008; Chuang et al., 2009). Pensando nesse desafio, alguns agentes antioxidantes foram testados com o intuito de reverter os efeitos deletérios da incorporação do oxigênio na estrutura dentária e aumentar a resistência de união imediata pós clareamento, porém ainda sem aplicação clínica rotineira (Torres et al., 2012; Zhong et al., 2023; Souza-Gabriel et al., 2020; Campos et al., 2024).

Os desafios da adesão pós clareamento se tornam ainda maiores em restaurações envolvendo dentina, uma vez que devido ao seu alto conteúdo orgânico e da umidade advinda dos fluidos dentinários provenientes da pressão pulpar positiva, a interface adesiva nesse substrato é mais frágil que no esmalte (Breschi et al., 2018; Tjäderhane et al., 2013). Altos níveis de umidade na interface adesiva podem ativar ainda a ação das metaloproteinases de matriz extracelular (MMPs) nas fibrilas colágenas, que são enzimas que degradam o colágeno tipo I e afetam a integridade e longevidade da resistência de união da interface dente-restauração (Perdigão et al., 2013; Carrilho et al., 2009).

A aplicação de novas tecnologias na prática clínica visando o aumento da integridade da interface adesiva, como a de aparelhos a laser, ampliou as possibilidades resolutivas na Odontologia e seu uso tem se difundido entre os profissionais (Ribeiro et al., 2005). Ainda assim, tratamentos odontológicos com lasers convencionais enfrentam alguns obstáculos clínicos devido a absorção dos seus comprimentos de onda e ao possível dano adicional aos tecidos circundantes (Abdulsamee, 2017; Armengon et al., 2000).

O laser de Er:YAG, todavia, tem um comprimento de onda de absorção específico, fortemente absorvido em água e hidroxiapatita, de 2.940 nm, que sugere uma aplicação promissora no tratamento odontológico de tecidos duros e moles (Comba et al., 2019; Curylofo et a., 2014; Otero et al., 2021). O comprimento de onda do laser de Er:YAG oferece possibilidades seguras na ablação seletiva e minimamente invasiva do substrato dentário, devido sua profundidade de penetração de energia rasa (Otero et al., 2021). Além disso, o laser promove mais conforto operatório para os pacientes, já que muitos procedimentos dispensam o uso de

anestesia (Brulat et al., 2013). A capacidade desse laser em interagir com a estrutura dental tem difundido seu uso na prática clínica para o condicionamento da superfície dentária e para o pré-tratamento do substrato em procedimentos adesivos, visando minimizar a microinfiltração marginal e aumentar a força de união dente-restauração (Ribeiro et al., 2005).

O efeito ablativo do laser pode influenciar na adesão pós-clareamento, por promover o aquecimento do substrato e ter o potencial de eliminar parcialmente o O₂ residual incorporado na estrutura dental pelo processo clareador (Torres et al., 2012). Os efeitos produzidos pelos lasers dependem, no entanto, da intensidade da energia e dos parâmetros aplicados (Gonçalves et al., 1999). Estudos prévios demonstraram a possibilidade de aumentar a resistência de união na interface dente-restauração com o uso dessa tecnologia em determinadas densidades de energia (Groth et al., 2001). Contudo, uma densidade de energia ideal para a utilização do laser posteriormente ao procedimento clareador ainda não foi esclarecida, sendo essa uma característica importante na escolha do tratamento visando a redução dos efeitos adversos relacionados ao clareamento sobre as restaurações adesivas.

Portanto, diante da necessidade de substituição de restaurações após o clareamento e da diferença de cor entre o substrato/material, torna-se essencial a busca por alternativas que visem a integridade de restaurações confeccionadas com tempo reduzido de espera do período de evaporação do O₂ residual do gel clareador. Sendo assim, a resistência de união e a atividade das MMPs foram avaliadas nesse estudo. Investigações neste sentido podem favorecer o entendimento sobre o tema e contribuir para a busca de procedimentos alternativos que visem a redução de danos à interface adesiva de restaurações estéticas realizadas logo após o término do clareamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura apresentada a seguir não teve a intenção de esgotar o assunto, mas apresentar artigos científicos relevantes para a escrita desse trabalho. No intuito de facilitar o entendimento, a revisão foi dividida em quatro tópicos principais: Adesão à dentina, Efeitos do clareamento na estrutura dental, Laser na Odontologia Restauradora e Pressão pulpar simulada.

2.1 Adesão à dentina

Buonocore (1955) iniciou o conceito de Odontologia Adesiva que conhecemos hoje pela introdução da técnica de condicionamento ácido em esmalte. Seu estudo mostrou que a adesão de discos de resina acrílica à superfície de esmalte era maior quando a superfície desse substrato era previamente condicionada com ácido fosfórico a 85% pelo tempo de 30 s, se comparada a nenhum tratamento prévio à adesão da resina acrílica. Como conclusão, o autor notou que esse tratamento formou microporosidades na superfície do esmalte, gerou aumento da área superficial do substrato, aumentou a capacidade de infiltração e molhamento da superfície e a adesão mecânica da resina acrílica.

Na revisão de literatura sobre a permeabilidade dentinária realizada por Pashley (1984) o autor expôs interferências na permeabilidade do tecido: espessura da dentina e proximidade da polpa; tipo de substância que se difunde através do tecido; número de túbulos pela área da luz do túbulo; e temperatura do substrato. A *smear layer*, material amorfo constituído de partículas de matriz dentinária, microrganismos, componentes salivares e óleo dos instrumentos rotatórios é formada quando a dentina é cortada. A *smear layer*, contudo, prejudica o selamento marginal das restaurações. Condicionar a dentina com ácido fosfórico a concentrações de 30% e 65%, promove a remoção da *smear layer* e solubiliza a dentina peritubular, que abre os túbulos dentinários. O autor enfatizou que outras pesquisas deveriam ser conduzidas a fim de avaliar a manutenção ou modificação

do *smear plug* e da *smear layer* na superfície dentinária previamente à adesão.

Com o intuito de avaliar a espessura do remanescente dentinário no processo de adesão, o estudo conduzido por Suzuki e Finger (1988) avaliou três diferentes sistemas adesivos, Clearfil New Bond (Kuraray), Gluma Dentin Bond (Kulzer) e Scotchbond (3M ESPE). Foi realizada a mensuração da dentina remanescente entre a superfície adesiva e a câmara pulpar por MEV. Foi realizado um cálculo da densidade dos túbulos dentinários por área nos locais de adesão e os valores de resistência adesiva para os três sistemas adesivos foram em média 40% inferiores para a dentina próxima à polpa, quando comparados aos valores da dentina superficial. Sendo assim, os autores concluíram que os valores de resistência de união eram diretamente proporcionais à área de dentina sólida na superfície.

Ainda em 1988, Tao e Pashley fizeram um estudo comparando a resistência adesiva da dentina do centro da coroa e da dentina localizada sobre os cornos pulpares. Terceiros molares humanos não erupcionados com remoção parcial da porção coronária, até a obtenção de superfícies planas de dentina com espessuras variadas. O sistema adesivo utilizado para o estudo foi o Scotchbond (3M ESPE) e os dentes receberam dois tipos de preparo, sendo um com disco de lixa de granulação 320 e o outro com brocas tronco-cônicas invertidas nº 37, em baixa rotação, visando promover diferentes tipos de *smear layer*. Para avaliar os diferentes tratamentos, o controle foi a lavagem com água durante um minuto. Os grupos experimentais utilizaram ultrassom por uma hora, EDTA 0.2% por um minuto, ácido cítrico 6% por um minuto ou ácido fosfórico 37% por 15 segundos. As amostras foram estocadas durante 24 horas a 37°C e submetidas ao teste de resistência ao cisalhamento. A resistência adesiva nos espécimes em que a *smear layer* foi criada com discos de lixa foi ligeiramente superior que os espécimes em que a *smear layer* foi criada com brocas. Os tratamentos ácidos proporcionaram menor resistência adesiva na dentina profunda do que na dentina superficial. Os autores concluíram que a área de adesão (central ou periférica) não interferiu significativamente na resistência adesiva, mas o tratamento dado à *smear layer* interferiu.

Van Meerbeek et al. (1992) realizaram um experimento que avaliou a interface adesiva entre dentina e resina com vinte e cinco sistemas adesivos diferentes, após o tratamento do substrato com um feixe de íon de argônio. O

objetivo desse tratamento era melhorar a visualização da interface pelo MEV. Após a análise das imagens, os sistemas adesivos foram classificados quanto a sua morfologia, elucidando os mecanismos de adesão envolvidos em cada um deles. Foram observadas três diferenças principais entre os grupos, se tratando da morfologia. Um grupo apresentou *smear layer* totalmente removida, possivelmente devido ao condicionamento ácido ou que utilizou agentes quelantes, expondo uma rede de colágeno que facilita a penetração do adesivo. O segundo apresentou uma *smear layer* preservada, com túbulos dentinários obliterados, uma vez que a finalidade dos sistemas adesivos era incorporar a *smear layer* juntamente com os monômeros hidrofílicos. O terceiro grupo apresentou uma *smear layer* parcialmente dissolvida, levando à formação de uma camada híbrida fina e com *smear plugs* impregnados por resina. Os autores demonstraram com esse estudo que a aplicação dos sistemas adesivos é capaz de provocar mudanças na estrutura e morfologia da superfície dentinária, resultando em uma interface retentiva, denominada zona de interdifusão, que ocorre entre a dentina intacta e o material restaurador. Essa zona além de apresentar sítios para adesão, pode apresentar atividade protetora para o tecido pulpar.

Nakabayashi e Takarada (1992) conduziram um estudo que investigou o efeito do tratamento da superfície dentinária com o monômero resinoso bifuncional com grupamentos hidrofílicos 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) de forma prévia à aplicação de sistema adesivo resinoso e posteriormente ao condicionamento ácido. Em pesquisas antecedentes a esta, os autores afirmaram que a adesão entre a dentina e a resina ocorria de forma química e mecânica, pela interação entre o substrato dentinário e o monômero resinoso. Contudo, imagens por MEV mostraram a existência de uma zona de transição, denominada camada híbrida, considerada pelos autores, fundamental para altos valores de resistência de união. O HEMA foi responsável por favorecer a difusão dos monômeros na dentina condicionada, uma vez que monômeros resinosos impregnam as fibras colágenas expostas e formam a camada híbrida, após a polimerização.

Tay et al. (1996) utilizaram 24 molares humanos num trabalho que objetivou demonstrar que a umidade superficial da dentina não é um fator importante para o bom desempenho dos adesivos. Foram confeccionados espécimes circulares de dentina de aproximadamente 1 mm de espessura. Esses espécimes foram divididos

em três grupos e tratados com ácido fosfórico a 10% por 20 segundos, depois lavados com água e restaurados com o sistema adesivo All Bond II (Bisco). No grupo 1 a superfície da dentina foi seca por 3 segundos com jato de ar a uma distância de 20cm sem deixar sinais visíveis de água; no grupo 2 a água em excesso foi removida com papel absorvente e a superfície dentinária ficou visivelmente úmida. No grupo 3, água destilada foi gotejada sobre a superfície da dentina, simulando uma superfície com super-molhamento. Os resultados mostraram que quando há excesso de umidade sobre a superfície da dentina, bolhas são formadas na interface dentina-primer e abaixo desses espaços há a presença de túbulos que não foram completamente selados. Bolhas na interface adesiva podem resultar na diminuição da resistência de união adesiva, se o adesivo for aplicado com excesso de umidade superficial. Os autores concluíram que possivelmente uma quantidade mínima de água seja necessária para manter a rede de colágeno estável, e ainda que a quantidade do sistema adesivo All Bond II ou de sistemas semelhantes pode ser um fator negativo para a técnica úmida.

Pashley e Carvalho (1997) conduziram uma revisão de literatura que procurou evidenciar a importância da permeabilidade dentinária nos procedimentos adesivos. Os autores citaram que para que exista uma penetração satisfatória da resina nos túbulos e nas fibras colágenas que foram expostas, é desejável que haja uma permeabilidade intra e intertubular da dentina pós condicionamento, além da porosidade superficial pós condicionamento ácido ser um fator importante no processo de infiltração. Procedimentos adesivos que utilizam secagem com ar da seringa tríplice tem impacto negativo na permeabilidade da dentina desmineralizada, levando à diminuição dos interfibrilares e promovendo contração e/ou colapso das fibras e consequentemente comprometer a camada híbrida. Quanto mais profunda a dentina, maior a quantidade de túbulos, com maiores diâmetros, permitindo maior difusão do monômero, o que faz com que uma melhor infiltração do adesivo. Os autores também verificaram a importância de umedecer a superfície dentinária que foi desidratada por jato de ar e a interferência da dentina úmida antes da aplicação do primer. É importante que a penetração do adesivo ocorra em toda a dentina desmineralizada, já que o mais importante é a penetração uniforme e não a profundidade de penetração. Adesivos autocondicionantes evitam alguns problemas relacionados ao condicionamento ácido da dentina e devido à sua acidez intrínseca,

aumentam a permeabilidade dentinária e a infiltração da resina nas porosidades da dentina, além da simplicidade da técnica, comparado aos sistemas adesivos convencionais. A dentina apresenta resistências adesivas não-uniformes em função das diferenças de densidade dos túbulos dentinários, da permeabilidade dentinária, da concentração de cálcio, da presença de dentina esclerótica e da variação de espessura da *smear layer*. A soma de todos esses fatores resulta em um alta variabilidade de infiltração dos monômeros na dentina, influenciando diretamente na adesão e durabilidade da interface.

Diante das características inerentes ao substrato dentinário e das circunstâncias encontradas no processo de adesão à dentina, os adesivos autocondicionantes lançados no mercado na década de 90 ganharam espaço na prática clínica odontológica. Van Meerbeek et al. (2003) classificaram os sistemas adesivos de acordo com seus mecanismos de adesão aos substratos (esmalte e dentina). Sistemas convencionais, com condicionamento total (ácido fosfórico 30% a 40%) seguido da aplicação do *primer* e do adesivo resinoso, foi denominado sistema de 3 passos; quando *primer* e adesivo estão no mesmo frasco, o sistema é de 2 passos. Caso o ácido, o *primer* e o adesivo estejam em frasco único, o sistema simplificado para 1 passo. Os sistemas convencionais de três passos continuaram apresentando melhor desempenho longitudinal, seguido dos sistemas autocondicionantes de dois passos e por último os sistemas de passo único. A conclusão dos autores foi que simplificar o número de passos dos procedimentos adesivos não garante maior efetividade na adesão. Entretanto, na prática clínica, os sistemas autocondicionantes podem diminuir, significativamente, a sensibilidade à técnica e o tempo de aplicação.

Abdalla (2010) conduziu um estudo para avaliar os efeitos da armazenagem longitudinal em água destilada sobre a resistência de união à superfície dentinária. Para os testes, terceiros molares humanos foram restaurados utilizando cinco sistemas adesivos diferentes. Foram utilizados um sistema convencional Admira Bond (Voco) e quatro sistemas autocondicionantes Clearfil SE Bond (Kuraray), Hybrid Bond (Sun Medical), Futurabond NR (Voco) e AdheSE (Ivoclar). Os espécimes foram restaurados e armazenados em água destilada a 37°C nos períodos de 24 h ou 3 anos e, em seguida foram seccionados em palitos para a realização do teste de microtração. O autor concluiu que o período de

armazenamento de 24 h não causou diferença significativa na resistência de união entre todos os adesivos testados. Para o período de armazenamento de 3 anos, todos os sistemas autocondicionantes apresentaram uma redução significativa da resistência adesiva. O sistema adesivo convencional não apresentou redução significativa em nenhum dos tempos de armazenamento.

Com o objetivo de testar um novo adesivo autocondicionante de passo único em diferentes abordagens de aplicação (condicionamento total ou autocondicionante) Hanabusa et al. (2012) conduziram um estudo utilizando 25 terceiros molares humanos não cariados, divididos em dois grupos, seguindo 5 protocolos adesivos. Os dentes do primeiro grupo foram seccionados e aplicou-se ao esmalte um protocolo autocondicionante e de condicionamento total. Na dentina foi realizado um protocolo autocondicionante, com adesão seca e um protocolo de adesão úmida de condicionamento total. Os autores concluíram que a adesão com adesivos autocondicionantes de passo único pode ser melhorada se as margens do esmalte forem condicionadas de forma seletiva com ácido fosfórico. No substrato dentinário, a abordagem autocondicionante é preferível, uma vez que a análise por MEV da interface revelou uma camada híbrida de baixa qualidade.

Silva Soares & do Espírito Santo (2014) investigaram as características da dentina humana e bovina para avaliar o potencial uso da dentina bovina como substituta da dentina humana na odontologia adesiva. Várias técnicas analíticas, incluindo microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios-X de energia dispersiva (EDS), foram empregadas para analisar a morfologia e a composição química das amostras de dentina humana e bovina. Os resultados revelaram características morfológicas comparáveis entre os dois tipos de dentina, como túbulos dentinários e dentina intertubular. Além disso, a análise por EDS demonstrou composições químicas semelhantes, com presença de cálcio, fósforo e outros oligoelementos tanto na dentina humana quanto na bovina, sugerindo que a dentina bovina apresenta características morfológicas e químicas semelhantes à dentina humana, tornando-se uma alternativa potencial para procedimentos de odontologia adesiva. O uso de dentina bovina pode ajudar a superar os desafios associados à disponibilidade limitada e preocupações éticas em relação às fontes de dentina humana. No entanto, é necessária uma investigação do desempenho a longo prazo e as implicações clínicas do uso de dentina bovina como substituto em

aplicações de adesivos odontológicos. Os resultados suportam o uso potencial da dentina bovina como um substituto para a dentina humana na odontologia adesiva, oferecendo um caminho promissor para futuras pesquisas e aplicações clínicas no campo.

Abu-Nawareg et al. (2015) conduziram uma revisão sistemática da literatura descrevendo a evolução do uso de sistemas adesivos dentais na formação do selamento dentinário imediato em dentina recém preparada e sua capacidade de proteger a polpa de produtos bacterianos. Eles examinaram os diferentes materiais adesivos, técnicas de aplicação e métodos de avaliação usados nos estudos, além de discutir os potenciais benefícios e desafios associados ao selamento adesivo em experimentos *in vitro*. A literatura foi revisada em busca de evidências de que bactérias ou produtos bacterianos que se difundem pela dentina podem irritar os tecidos pulpaes antes e depois da remoção da *smear layer* no preparo para coroas totais. Enquanto a *smear layer* permanece no lugar, ela pode selar parcialmente a dentina, assim, muitos estudos *in vitro* avaliando a capacidade de vedação de resinas adesivas usam a dentina coberta com *smear layer* como referência. Os resultados da revisão destacam a eficácia das técnicas de selamento adesivo para melhorar a integridade e a longevidade das superfícies dentinárias. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram que a dentina coberta por resina permite que o fluido dentinário passe pelas resinas polimerizadas. O uso de adesivos simplificados de frasco único para selar a dentina se mostrou um retrocesso e a maioria dos cirurgiões-dentistas usam adesivos de 3 etapas ou adesivos de primer autocondicionante de duas etapas, como Clearfil S3 Bond (Kuraray), Unifil Bond (GC) ou Tetric N-bond (Ivoclar Vivadent). Os estudos também enfatizaram a importância da adequada aplicação das técnicas para garantir vedação e adesão ideais à dentina. Embora o estudo mostre resultados positivos do selamento adesivo *in vitro*, ele reconhece certas limitações e áreas para pesquisas futuras. A necessidade de protocolos de avaliação padronizados, avaliações de durabilidade a longo prazo e tradução clínica de achados *in vitro* foram identificados como aspectos cruciais para estudos futuros. A revisão também identifica a necessidade de mais pesquisas para enfrentar os desafios e preencher a lacuna entre as aplicações *in vitro* e clínicas.

Perdigão (2020) apresentou uma visão geral e uma análise crítica do estado atual da adesão dentária, com foco específico na adesão à dentina. O trabalho

conduzido pelo autor destaca os desafios e limitações existentes na obtenção da adesão ideal às superfícies dentinárias na Odontologia Restauradora, avaliando criticamente as técnicas e materiais atuais utilizados para adesão à dentina, destacando suas deficiências e problemas enfrentados na obtenção de uma adesão confiável e durável, discutindo a complexidade da dentina, controle de umidade, infiltração incompleta de resina e degradação da interface, que contribuem para o desempenho abaixo do ideal dos adesivos dentinários. Apesar dos avanços nos sistemas adesivos, alcançar uma adesão previsível e duradoura à dentina continua sendo um desafio na odontologia. Fatores como a variabilidade do substrato dentinário, a penetração inadequada do adesivo nos túbulos dentinários e a degradação hidrolítica das interfaces adesivas são identificados como os principais obstáculos. O autor conclui então, que embora tenham ocorrido avanços, alcançar uma adesão confiável e duradoura à dentina continua sendo um desafio contínuo.

Jiang et al. (2020) avaliaram os efeitos do remanescente de dentina (RDT) na resistência de união ao microcisalhamento de um cimento resinoso à dentina clareada com peróxido de hidrogênio a 35%. 120 espécimes de dentina foram preparados e divididos aleatoriamente em 2 grupos: Grupo B - grupo de clareamento e Grupo C - controle. O peróxido de hidrogênio com concentração de 35% (Ultradent, EUA) foi aplicado na superfície da dentina do grupo B, enquanto nenhum tratamento clareador foi realizado para o grupo C. Após o tratamento clareador os espécimes receberam acabamento e polimento para obter diferentes RDTs (2, 1 e 0,5 mm) e foram divididos em 3 grupos de 20 espécimes cada. Para cada grupo, metade dos espécimes foi submetida a 5.000 ciclos térmicos (subgrupo T), enquanto a outra metade não recebeu termociclagem (subgrupo N) (n = 10). Os espécimes foram então submetidos ao teste de resistência ao cisalhamento e analisados por MEV. Os valores de resistência ao cisalhamento foram significativamente afetados pelo tratamento clareador, enquanto nenhum efeito significativo foi observado para a termociclagem. Em relação ao RDT, um valor de μ SBS significativamente diferente foi encontrado entre os subgrupos C, entretanto, o RDT não afetou significativamente os valores de resistência ao cisalhamento na dentina clareada do grupo B. Os valores de união foram significativamente menores no grupo B do que no grupo C. Os autores concluíram que o RDT não afetou a resistência de união do cimento resinoso à dentina clareada.

2.2 Efeitos do clareamento na estrutura dental

O estudo *in vitro* conduzido por Rotstein et al. (1996) investigou o efeito do tratamento clareador sobre a estrutura do dente (esmalte, dentina e cemento). Para obtenção dos espécimes, foram utilizados pré-molares humanos clareados com solução de peróxido de hidrogênio a 30%, solução de peróxido de carbamida a 10%, pasta de perborato de sódio e três géis clareadores caseiros (Nu-Smile, Opalescence e Dental Bright) pelo período de 7 dias. Os espécimes do grupo controle foram armazenados em uma solução salina. Foram feitas análises em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS). Foram observadas mudanças nos níveis de cálcio, fósforo, sulfato e potássio nos tecidos causadas pela maior parte dos agentes clareadores. Os níveis de cálcio reduziram significativamente pós tratamento com peróxido de hidrogênio a 30% e aumentaram com o peróxido de carbamida a 10% em esmalte. Na dentina, observou-se uma redução dos níveis de cálcio com o peróxido de hidrogênio a 30% e peróxido de carbamida a 10%. No cemento, houve redução nos níveis de cálcio após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 30%. Concluiu-se que os clareadores causam danos em concentrações elevadas.

Spyrides et al. (2000) conduziram um estudo com o intuito de avaliar o efeito de três agentes clareadores sobre a força de união adesiva à dentina. 120 incisivos foram bovinos divididos em 4 grupos: Grupo 1: sem clareamento (controle); Grupo 2: clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% por 30 minutos; Grupo 3: clareamento com peróxido de carbamida a 35% por 30 minutos; Grupo 4: clareamento com peróxido de carbamida por 6 horas. Foram realizadas restaurações em resina composta imediatamente e após uma semana do tratamento clareador. Os resultados mostraram que a força de adesão à dentina foi reduzida em cerca de 75% quando as restaurações foram confeccionadas imediatamente após o clareamento, já após o período de 7 dias, a resistência adesiva dos espécimes clareados aumentou quando conservados em saliva artificial.

Elkhatib et al. (2003) conduziram um estudo avaliando a relação entre o pH e a força de adesão à dentina com ou sem tratamento clareador. Para este fim, foram utilizados espécimes circulares de dentina, obtidos de dentes humanos,

clareados com peróxido de hidrogênio a 30% e perborato de sódio por sete dias. Após o clareamento, os espécimes foram então lavados com água por diferentes intervalos de tempo: 5s, 15s ou 30s. Foram então confeccionadas restaurações em resina composta, aderidas ao substrato com um sistema adesivo autocondicionante (*Self-Etch*), divididas em dois períodos: 24 horas e 1 semana (em saliva artificial). Os resultados mostraram que o tratamento clareador utilizando peróxido de hidrogênio reduziu a força de união à dentina, além de aumentar o pH e esses valores foram restabelecidos após o armazenamento por uma semana em saliva artificial.

No estudo de Spalding et al. (2003), os autores utilizaram MEV para avaliar a morfologia superficial do esmalte após a utilização de soluções de peróxido de hidrogênio a 35% associado (ou não) à peróxido de carbamida a 10% e a ação da saliva sobre a estrutura do esmalte clareado. Foram utilizados pré-molares (n=6) e terceiros molares (n=6), seccionados no sentido V-L e M-D no intuito de obter quatro partes da coroa. Dos 4 fragmentos de cada dente, 3 receberam tratamento clareador e 1 foi utilizado como controle. No primeiro protocolo clareador o tratamento dos espécimes foi feito com peróxido de hidrogênio a 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) por 20 minutos. No segundo protocolo, o tratamento dos espécimes foi feito com peróxido de hidrogênio a 35% durante 20 minutos, seguido da imersão em saliva por 7 dias. No terceiro protocolo os espécimes foram tratados primeiro com peróxido de hidrogênio a 35% e depois com peróxido de carbamida por 7 dias (sendo 12h com peróxido de carbamida alternado com 12h em saliva). O MEV revelou que os diferentes protocolos de clareamento promoveram variações na morfologia superficial do esmalte. Foi observado um aumento da rugosidade superficial das amostras tratadas com o primeiro protocolo experimental. No segundo protocolo experimental foi observada a presença de partículas e glóbulos esféricos incorporados na estrutura mineralizada do esmalte. No terceiro protocolo experimental foi observada uma superfície lisa e brilhante. Os resultados apontaram que apesar das mudanças na superfície do esmalte pós clareamento, o clareamento foi considerado seguro para o esmalte.

Chng et al. (2004) investigaram a dureza intertubular dentinária e as alterações superficiais na dentina causadas pelo peróxido de hidrogênio a 30%. Pré-molares humanos extraídos (n=5) foram seccionados e receberam polimento afim de produzir dois espécimes por dente, distribuídos em dois grupos: Grupo 1 - solução

salina por 24h; Grupo 2 - peróxido de hidrogênio a 30% por 24h. A dureza da dentina intertubular e a morfologia superficial foram mensuradas antes e depois dos tratamentos através de imagens e nanoindentações através do Microscópio de Força Atômica. O grupo controle não apresentou alteração na dureza da dentina intertubular e o clareamento com peróxido de hidrogênio por 24h gerou alteração na superfície da dentina intertubular e diminuição da dureza. Esses efeitos possivelmente ocorreram devido à forte ação antioxidante e baixo pH do peróxido de hidrogênio, como a dentina peritubular é hipermineralizada, foi mais resistente ao peróxido de hidrogênio do que a dentina intertubular.

No trabalho conduzido por Torres et al. (2006), os autores avaliaram a ação de agentes antioxidantes na força de união adesiva ao esmalte de dentes clareados, além de sua ação neutralizadora. Foram utilizados oitenta incisivos bovinos, divididos em oito grupos experimentais (6 experimentais e 2 controles – 1 positivo e 1 negativo). Os espécimes dos grupos experimentais receberam tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 35% por 30 minutos e foram submetidos a um dos agentes antioxidantes por 20 minutos: acetona, ascorbato de sódio a 10%, bicarbonato de sódio a 7%, catalase, etanol e glutathione peroxidase. Os espécimes receberam então restaurações em resina composta e foram levados ao teste de cisalhamento. Os resultados mostraram que todos os grupos tiveram força de adesão menor do que o grupo controle negativo e somente a catalase teve capacidade de aumentar a força de união adesiva ao esmalte pós clareamento, contudo não houve neutralização completa dos efeitos deletérios do clareamento por nenhum agente antioxidante.

Amaral et al. (2008) avaliaram a ação do clareamento sobre a morfologia da estrutura dental e a adesão à dentes bovinos nesse estudo *in vitro*. Foram usados diferentes agentes clareadores: perborato de sódio, peróxido de hidrogênio a 37% e peróxido de carbamida a 35%. Sete dias após o clareamento, foram confeccionadas sobre os espécimes restaurações em resina composta posteriormente submetidas ao teste de microtração e à análise por MEV. A força de união adesiva ao substrato (esmalte) não foi afetada pelos agentes clareadores. O clareamento dental causou a abertura dos túbulos dentinários; a resistência de união à dentina foi reduzida após o clareamento com todos os agentes, exceto após o peróxido de hidrogênio a 35%. A maior redução na força de união à dentina ocorreu com o perborato de sódio.

A influência do tempo sobre a adesão após clareamento foi investigada por Barbosa et al. (2008). Dentes não clareados, mantidos em saliva artificial por 14 dias foram usadas como controle. As superfícies de esmalte e dentina clareadas receberam restaurações em resina composta sob diferentes intervalos de tempo: imediato, 1 semana e 2 semanas após o procedimento clareador com peróxido de hidrogênio a 35%. Passados esses intervalos, os espécimes foram levados para o teste de microtração. O tempo afetou os valores de força de adesão após o clareamento em esmalte e dentina. A resistência de união adesiva aos substratos clareados foi normalizada após o período de 7 e 14 dias. Os autores concluíram que procedimentos adesivos em esmalte devem ser realizados após 7 dias do procedimento clareador utilizando peróxido de hidrogênio a 35% e em dentina esse tempo aumenta para 14 dias.

Carrasco-Guerisoli et al. (2009) avaliaram *in vitro* os efeitos de diferentes sistemas clareadores sobre a morfologia da dentina de dentes bovinos. Para este estudo, 30 espécimes foram utilizados e divididos em um grupo controle - espécimes não clareados e por espécimes clareados com uma mistura de perborato de sódio e peróxido de hidrogênio a 10%. As amostras foram observadas em MEV e as imagens registradas foram avaliadas quanto a alterações topográficas. Aparentemente, tanto o pH baixo quanto a oxidação do peróxido de hidrogênio desempenham um papel na alteração da ultraestrutura da dentina durante o clareamento dental interno. Os autores concluíram que o uso de produtos alcalinos com tempo reduzido de aplicação (técnicas de consultório) pode diminuir alterações morfológicas na dentina.

Lima et al. (2011) avaliaram se o clareamento exerce influência sobre a força de união adesiva ao esmalte e dentina subjacentes e a ação de um agente antioxidante (ascorbato de sódio a 10%) após o tratamento clareador. Os espécimes foram divididos em dois grupos controles (esmalte e dentina sem clareamento) e 12 grupos experimentais, organizados de acordo com tipo de agente clareador (peróxido de carbamida a 16% e/ou peróxido de hidrogênio a 35%), o tempo entre os procedimentos clareadores e adesivos (24h, 24h + ascorbato de sódio a 10% por 1 minuto e 14 dias) e ao tipo de substrato. O procedimento clareador foi realizado apenas sobre a superfície do substrato de esmalte. O esmalte apresentou menor resistência de união após o clareamento, porém o uso do ascorbato de sódio por 1

minuto conseguiu reverter esse quadro; já a adesão à dentina subjacente, entretanto, não sofreu ação do procedimento clareador.

Cavalli et al. (2018) avaliaram a resistência de união à dentina e a nanoinfiltração da dentina não condicionada e pré-condicionada imediatamente (T0), 7 dias (T7) e 14 dias (T14) após o clareamento. 150 incisivos bovinos foram selecionados e metade deles (n=75) submetidos ao condicionamento dentinário intrapulpar. As dentinas não condicionada e pré-condicionada foram submetidas aos seguintes tratamentos: sem clareamento/controle (C); 35% de peróxido de carbamida (CP); 35% de peróxido de hidrogênio (35% HP); 25% de peróxido de hidrogênio (25% HP); e perborato de sódio (SP). Os agentes clareadores foram aplicados na câmara pulpar quatro vezes em um intervalo de 72 horas. Em seguida, a dentina da câmara pulpar foi preparada para o teste resistência de união em diferentes tempos de avaliação: T0, T7 e T14. Blocos de resina composta foram construídos na câmara pulpar e seccionados em fatias. Dois espécimes adicionais para cada grupo foram preparados para avaliação de nanoinfiltração por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A resistência de união diminuiu imediatamente após o clareamento tanto para dentina hígida quanto para dentina pré-condicionada. Em T14, resistência de união da dentina clareada não condicionada aumentou para todos os grupos, enquanto o grupo pré-condicionado apresentou resistência de união semelhante ao controle. A nanoinfiltração na camada híbrida foi perceptível imediatamente após o clareamento, embora uma diminuição da nanoinfiltração tenha sido observada para todos os grupos em T14. Os autores concluíram que as restaurações adesivas devem ser realizadas de 7 a 14 dias após o clareamento, de acordo com o agente clareador utilizado.

El Mourad (2019) avaliou o efeito do clareamento com peróxido de carbamida a 20% na resistência ao cisalhamento de diferentes adesivos ao esmalte e verificou o modo de falha de cada espécime. Molares humanos hígidos (N=100) foram usados neste estudo. Os adesivos OptiBond Solo Plus (Kerr), Single Bond Universal (3M ESPE) e Tetric N-Bond Universal (Ivoclar Vivadent) foram aplicados com as técnicas de condicionamento total e autocondicionante. Todos os espécimes foram termociclados em 5.000 ciclos e então divididos em: grupo controle (sem clareamento) e clareamento (peróxido de carbamida a 20%). Os valores de resistência ao cisalhamento de todos os adesivos testados foram menores no grupo

de clareamento do que no grupo controle (não clareado), em particular os valores de resistência de união dos adesivos autocondicionantes. O autor concluiu que a estabilidade das restaurações de resina composta no esmalte, usando diferentes adesivos dentais, pode ser comprometida após o procedimento clareador em diferentes níveis de sensibilidade.

Piemjai e Lenglerdphol (2018) avaliaram a profundidade e/ou espessura de penetração do corante nas margens de esmalte e cemento/dentina de restaurações antes e depois de clareamento vital. Restaurações Classe V foram preparadas em pré-molares humanos extraídos e restauradas com resina composta usando adesivos AQ-Bond (Sun Medical) ou Single-Bond2 (3M ESPE). Os espécimes foram divididos em quatro grupos: sem clareamento (controle), restaurado antes do clareamento (RB), clareado e restaurado imediatamente (BIR), clareado e armazenado em saliva artificial por 7 dias e depois restaurado (B7R), usados para cada grupo adesivo. Após imersão em fucsina básica por 24 horas, todos os espécimes foram seccionados verticalmente no meio das restaurações para medir a distância e/ou a espessura de penetração do corante. Nenhuma microinfiltração foi encontrada nas margens de esmalte e cemento/dentina do grupo controle usando AQ-Bond. Microinfiltração foi observada no grupo de controle usando Single-Bond2 e nos grupos clareados. Diferenças significativas na profundidade de infiltração e/ou espessura foram encontradas entre os grupos na margem de cemento/dentina. O corante penetrou na câmara pulpar dos espécimes BIR e B7R. O clareamento usando 38% de peróxido de hidrogênio aumenta a profundidade de microinfiltração e área de penetração do corante na margem de cemento/dentina mais do que na margem de esmalte. Os autores concluíram que o dente clareado não é um bom substrato para adesão confiável e é um canal para estímulos externos que atingem a polpa.

Moosavi et al. (2022) avaliaram o efeito do uso de dentifrícios clareadores durante o clareamento caseiro na resistência ao cisalhamento (SBS) de resina composta à dentina e investigaram se o aumento do tempo de polimerização melhoraria a SBS. 96 incisivos bovinos foram divididos em 4 grupos, de acordo com o tratamento clareador aplicado: Grupo 1 - clareamento caseiro + escovação com dentifrício comum; Grupo 2 - clareamento caseiro + escovação com dentifrício clareador contendo ozônio; Grupo 3 - clareamento caseiro + escovação com

dentifrício clareador comercial; e Grupo 4 (controle) - sem clareamento/escovação. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos (n = 12) para avaliar o efeito do tempo de fotopolimerização na SBS. Um adesivo autocondicionante foi utilizado para aderir a resina composta à dentina e, após 2 dias de armazenamento em água, a SBS foi determinada. O tratamento clareador afetou significativamente a resistência ao cisalhamento, mas o aumento do tempo de polimerização não teve efeito significativo sobre a SBS. A força de união no grupo 1 foi comparável ao grupo controle e as amostras do grupo 3 exibiram SBS significativamente menor do que o grupo 4 ou o grupo 1. A interface adesiva não foi influenciada negativamente pelo procedimento de clareamento caseiro. No entanto, o uso de um dentifrício clareador comercial durante o clareamento caseiro produziu um efeito prejudicial significativo na resistência ao cisalhamento e estender o tempo de polimerização não teve nenhum efeito benéfico na adesão ao substrato dental clareado.

2.3 Laser na Odontologia Restauradora

O uso do laser Er:YAG para ablação das estruturas dentais apareceu na literatura pela primeira vez no estudo conduzido por Hibst e Keller (1989). Os autores avaliaram o uso do laser na remoção de cárie e ablação de esmalte e dentina, utilizando um pulso de 250 μ s. A energia variou de 30 a 360 mJ e frequência de 1 Hz. Os autores concluíram que o laser de Er:YAG é absorvido pelo substrato dental através da hidroxiapatita e da água, além de causar rápido aquecimento e que a remoção da dentina e do esmalte se dá pelas micro explosões derivadas do processo de vaporização contínua.

Visuri et al. (1996) avaliaram a influência da refrigeração durante a ablação da superfície dentinária com laser de Er:YAG.. A espessura de dentina removida foi calculada. Nas amostras não refrigeradas a temperatura passou de 15 °C, já nas amostras que receberam irrigação com água, a temperatura máxima foi menor que 3 °C para todas as fluências. Em fluências altas a taxa de ablação não foi afetada pelas variações do fluxo de água da refrigeração. A irradiação refrigerada produziu poucos escombros residuais. Os resultados mostraram que a refrigeração com água

diretamente no local da irradiação dos tecidos pelo laser de Er:YAG não diminui grandemente o resultado da ablação e pode até mesmo melhorar o processo.

Visuri et al. (1996) avaliaram ainda o efeito da irradiação com laser Er:YAG sobre a adesão à dentina. O laser de Er:YAG utilizado tinha um comprimento de onda de 230 μ s, taxa de repetição de 6 Hz e energia de 350 mJ (45 J/cm²). O fluxo de água de refrigeração foi de 24 ml/min. As amostras foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise por MEV mostrou maior desgaste na dentina peritubular do que a dentina intertubular, e mostrou ainda a abertura dos túbulos dentinários depois a irradiação com laser. Essa característica pode eliminar o condicionamento para adesão de resinas compostas. Os resultados mostram que o preparo com laser gerou uma alta adesão em comparação com os outros métodos investigados no estudo. Os dentes tratados com laser obtiveram os melhores resultados de adesão.

Dostálová et al. (1997) investigaram o efeito do aquecimento dos dentes sobre os danos pulpares usando pré-molares preparados com laser nesse estudo *in vivo*. O laser de Er:YAG foi utilizado para preparar os dentes, com pulso de 200 μ s, refrigeração com água e um controlador de potência. O laser foi utilizado com 350 mJ de energia (150 pulsos) e 2 Hz de frequência. Foi utilizado um fluxo de água de 50 ml/min e ar comprimido para a refrigeração. O preparo foi feito com o laser de Er:YAG, padronizado e os dentes foram extraídos após a irradiação. Foram feitas análises em microscópio de luz e não foram encontradas trincas ou defeitos estruturais. Não houve reação inflamatória na polpa, com presença de odontoblastos normais. Os resultados indicam que a ablação do esmalte e da dentina com laser de Er:YAG, sob os parâmetros de energia utilizados nesse estudo foram seguros.

Gonçalves et al. (2002) avaliaram a tensão da interface adesiva de sistemas restauradores resinosos sob a influência da irradiação da superfície dentinária com laser de Er:YAG. Os espécimes dos grupos experimentais receberam o laser de Er:YAG sobre a superfície de dentina, com 140 mJ, 4 Hz, à 90°, sob refrigeração. Foram utilizadas as resinas Alert (Jeneric-Pentron), Prodigy (Kerr) e Z100 (3M ESPE) com os sistemas adesivos Bond 1 (Jeneric-Pentron), Optibond Solo (Kerr), e Single Bond (3M ESPE). Apenas o grupo experimental utilizando Alert demonstrou uma melhora na adesão associado ao uso do laser. Os outros grupos foram influenciados negativamente com a utilização do laser.

Ramos et al. (2004) avaliaram a força de união adesiva de um sistema adesivo autocondicionante e dois sistemas adesivos convencionais da dentina irradiada com laser de Er:YAG. A morfologia da interface foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O laser foi utilizado com uma 80 mJ, 2 Hz, sem contato, com água a 5 ml/min. Foram utilizados os adesivos Clearfil SE Bond (Kuraray, Japão), Single Bond (3M ESPE) e Gluma One Bond (Kulzer). Restaurações em resina Z250 (3M ESPE) foram feitas. A análise por MEV mostrou uma camada híbrida bem definida e contínua nos protocolos dos substratos não irradiados. Os *tags* de resina variaram de comprimento, selando a entrada dos túbulos dentinários. Os grupos tratados com laser de Er:YAG apresentaram camadas híbridas mal definidas, com padrão irregular. Os autores concluíram que a irradiação da dentina com laser de Er:YAG afetou de forma negativa a interação dos sistemas adesivos com o substrato irradiado para esse parâmetro específico do laser.

Bachmann et al. (2005) avaliaram as alterações orgânicas e inorgânicas do substrato dentinário após a irradiação com laser de Er:YAG, uma vez que a espectroscopia por infravermelho possibilita identificar essas mudanças. As amostras foram irradiadas com o laser utilizando 400 μ s de pulso, 2 Hz, gerando uma fluência de até 1,94 J/cm². Foi observada uma diminuição do nível de água proporcionalmente ao aumento da fluência do laser e degradação do colágeno. Os resultados mostraram que o laser de Er:YAG causou mudanças na composição da dentina, na conformação da matriz orgânica (colágeno), na concentração de íon OH⁻ e na presença de H₂O na dentina.

Malta et al. (2008) avaliaram a adesão do conjunto de sistemas adesivos e resina composta Single Bond/Z250 (3M ESPE) e Vitrebond/Z250 (3M ESPE) ao substrato dentinário tratado com o laser de Er:YAG por meio do teste de microtração. O laser de Er:YAG (Key Laser 1242, Kavo, Alemanha) foi utilizado com 200-400 μ s. A energia foi de 60mJ e 100 mJ (5 Hz/ 20 s). Os resultados desse estudo mostraram que em baixas fluências a adesão foi estatisticamente similar entre os grupos não irradiados e irradiados.

Torres et al. (2012) avaliaram o efeito dos lasers Er:YAG e Nd:YAG na resistência de união de resina composta em dentes recém clareados. Incisivos bovinos (N=120) foram distribuídos em 2 grupos: grupo C: sem tratamento clareador e grupo B: clareamento com peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP, FGM).

Cada grupo foi então dividido em três subgrupos de acordo com o tratamento com laser: N: sem tratamento com laser; subgrupo Nd: irradiação com laser Nd:YAG; subgrupo Er: irradiação com laser Er:YAG. O sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE) foi aplicado ativamente e as restaurações em resina composta foram feitas com a resina Filtek Supreme (3M ESPE). Os dentes foram seccionados e submetidos ao teste de microtração. Os valores de resistência de união do grupo controle clareado foram menores em relação aos grupos clareados e irradiados com laser Nd:YAG ou Er:YAG, respectivamente. O grupo controle não clareado apresentou os maiores valores de resistência de união, entre todos os grupos. Os autores concluíram que o uso dos lasers Nd:YAG e Er:YAG em espécimes clareados foram capazes de melhorar a resistência de união adesiva.

Comba et al. (2019) avaliaram a resistência de união a microtração de restaurações confeccionadas em cavidades preparadas pelo laser de Er:YAG (250 mj; 30 Hz) e pelo método convencional utilizando pontas diamantadas. Os espécimes foram avaliados imediatamente e após seis meses de armazenamento. Foram utilizados 4 protocolos adesivos diferentes. Os autores concluíram que as superfícies preparadas com ponta diamantadas apresentaram valores de união mais altos do que as preparadas com o laser, entretanto esse resultado foi influenciado pelo tipo de protocolo adesivo e pelo tempo de armazenamento. Para o adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond 2 (Kuraray) os valores de resistência de união utilizando o laser de Er:YAG foram maiores tanto para o grupo imediato quanto para o armazenado por 6 meses.

2.4 Pressão pulpar simulada

Sabendo que um molar humano vital apresenta uma pressão intrapulpar de cerca de 14 cm de água, Mitchem et al. (1988) avaliaram três sistemas adesivos diferentes simulando condições fisiológicas da polpa e seus efeitos na resistência de união da interface resina-dentina. O estudo foi conduzido utilizando os adesivos Scotchbond, Tenure e Gluma e três técnicas experimentais: sistema de teste fisiológico monitorado, sistema fisiológico estático e teste padrão de laboratório (sem

simulação fisiológica). Após a realização das restaurações os espécimes ficaram durante 24 horas a 37°C armazenados e a resistência ao cisalhamento foi testada. Os autores observaram que a resistência de união caiu na técnica de sistema fisiológico estático para todos os adesivos. O adesivo Scotchbond apresentou o menor valor de resistência de união. O uso de simulação fisiológica da polpa gerou uma diminuição da resistência de união destes sistemas adesivos ao substrato dentinário.

Pereira et al. (1999) utilizaram terceiros molares humanos para analisar se a umidade influencia na resistência de união. Esses dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos, de acordo com a exposição a umidade: Grupo 1 - sem Pressão Pulpar Simulada (PPS), Grupo 2 - com PPS e Grupo 3 - dentina seca. Em seguida, os grupos foram subdivididos em dois subgrupos, de acordo com o tipo de adesivo (Clearfil Liner Bond ou One Step) e restaurados com resina APX. Após o período de 24 horas em água destilada numa temperatura de 37 °C os dentes foram subdivididos em três grupos de acordo com a espessura dentinária (dentina pulpar, central e periférica) e levados ao teste de microtração. Os autores concluíram que a resistência de união varia com a umidade, espessura de dentina e o tipo de sistema de adesivo, e esses fatores devem ser levados em consideração para a escolha do sistema adesivo.

Moll et al. (2006) avaliaram o efeito da adesão ecológica e da Pressão Pulpar Simulada (PPS) na resistência de união de adesivos. Para o estudo, foram utilizados 120 molares humanos com a superfície de dentina exposta, divididos pelo tipo de tratamento: sem PPS e sem adesão, com PPS e sem adesão, sem PPS e com adesão ecológica e com PPS e adesão ecológica. A dentina foi seca com jato de ar durante 10 segundos. A PPS foi realizada utilizando 30 cm de H₂O e a adesão ecológica foi com a bola de algodão para remoção da umidade. Os espécimes foram armazenados por 24 h em solução salina e temperatura ambiente e levados ao teste de microtração. Observou-se que a aplicação de PPS diminuiu a resistência de união. Os valores de resistência de união foram significativamente maiores para o adesivo Scotchbond 1. A combinação de PPS e adesão ecológica causou falhas pré-teste em muitos espécimes do adesivo A.R.T. A PPS afetou negativamente a resistência de união.

Escribano et al. (2001) conduziram um trabalho que avaliou o selamento marginal de restaurações confeccionadas com 5 sistemas adesivos convencionais Single Bond (3M ESPE), Syntac Sprint (Ivoclar), Prime & Bond 2.1 (Dentsply), F2000 Adhesive + Compomer (3M ESPE) e Optibond Solo (Kerr) e a resistência de união utilizando PPS 30 cm de água deionizada. Terceiros molares humanos hígidos foram utilizados. Um sistema de perfusão com 30 cm de água deionizada foi acoplado aos espécimes para simular a pressão intrapulpar e medir a permeabilidade basal da dentina. Uma cavidade de acesso (de 8,7 a 20,8 mm²) foi feita, para expor a dentina e realizar nova medida da permeabilidade. O protocolo restaurador aplicando os sistemas adesivos e resinas compostas foi conduzido. Os espécimes foram submetidos ao teste de resistência de união. As fraturas foram analisadas por microscopia óptica e que mostrou a incapacidade dos materiais estudados em reduzir a permeabilidade.

Pucci et al. (2012) investigaram a influência da PPS na resistência de união de sistemas adesivos autocondicionantes de um passo em dentina. Para o estudo foram utilizados noventa e seis molares humanos divididos em três grupos: MTB 200 (experimental); Clearfil SE Bond e IBond Self-etch. Esses grupos foram então subdivididos em outros dois subgrupos, de acordo com a ausência de PPS (0 cm de H₂O) e presença de PPS (15 cm de H₂O). As restaurações foram realizadas e os espécimes foram levados ao teste de microtração. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa para os grupos com e sem a PPS para os adesivos MTB 200 e IBond Self-etch. As análises por MEV e MET mostraram um acúmulo de água na interface adesiva para os adesivos IBond Self-etch com e sem PPS e Clearfil SE Bond com PPS. Os autores concluíram que a PPS exerce influência de acordo com o sistema de adesivo utilizado.

Kim et al. (2014) investigaram se a PPS e o tipo de cavidade exercem influência na composição da interface adesiva por meio de Emissão Acústica (AE). Trinta molares receberam preparos tipo classe I e II e foram divididos em quatro grupos: Grupo 1 - Restauração direta classe I sem PPS, Grupo 2 - Restauração direta classe I com PPS (20 cm de H₂O), Grupo 3 - Restauração classe II sem PPS e Grupo 4 - Restauração direta classe II com PPS (20 cm de H₂O). O sistema adesivo utilizado foi o Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M) e a resina composta utilizada foi a Filtek Z250 (3M). Durante a fotopolimerização, a AE foi registrada pelo período de

2.000 s e em seguida os dentes foram seccionados longitudinalmente no sentido mésio-distal. A interface adesiva foi avaliada por MEV. Os resultados mostraram que os valores de AE para os grupos 2 e 4 (com PPS) foram significativamente maiores que nos grupos 1 e 3 (sem PPS). O número de eventos de AE foi maior para os grupos 1 e 2 (classe I) do que para os grupos 3 e 4 (cavidade classe II). As imagens de MEV mostraram uma interface adesiva intacta na região entre esmalte e resina, porém falhas foram observadas na região entre dentina e resina, próximo à cavidade pulpar. O grupo que apresentou o maior número de falhas foi o 2. Com isso, os autores concluíram que a PPS em cavidades classe I (> Fator C) geraram mais eventos de AE e falhas de adesão, impactando negativamente na interface adesiva.

Haddad et al. (2020) avaliaram a resistência de união ao teste de microtração de dentes com diferentes espessuras de dentina, sob pressão pulpar simulada (PPS) submetidos à técnica adesiva com irradiação por laser. Quarenta molares humanos hígidos foram seccionados e divididos aleatoriamente em dois grupos (n=20): Grupo 1 com 1 mm de espessura de dentina e Grupo 2 com 2 mm de espessura de dentina. Cada grupo foi então dividido em dois subgrupos (n=10): A – Ausência de PPS; P – Presença de PPS à 15 cm H₂O. Os espécimes foram condicionados com ácido fosfórico a 37%, seguido da aplicação do sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M), irradiados com laser Nd:YAG (60 s, 1064 nm, 10 Hz) usando parâmetros de energia de 60 e 100 mJ/pulso e foi feita a fotopolimerização por 10 s. Um bloco de resina composta Filtek Z350 (3M) foi construído sobre a área irradiada. Após o período de armazenamento de 30 dias, as amostras foram seccionadas e submetidas ao teste de microtração. Como resultado, os autores não encontraram diferenças significativas para PPS na resistência de união. Os parâmetros de energia do laser indicaram que 100 mJ apresentou maiores médias de resistência de união à tração em relação ao grupo irradiado com 60 mJ. A presença de PPS reduziu os valores médios de resistência de união. Concluiu-se que a pressão pulpar simulada não afetou a resistência de união usando 60 mJ de parâmetro de energia do laser e que a 100 mJ de energia, a presença de PPS influenciou negativamente a resistência de união, independentemente da espessura da dentina.

3 PROPOSIÇÃO

Esse estudo teve como objetivo avaliar a capacidade da irradiação da superfície dentinária pelo laser de Er:YAG (LiteTouch III, Light Instruments, Syneron, Yokneam, Israel) em anular os efeitos deletérios do clareamento sobre a resistência de união de restaurações adesivas e na inibição da atividade enzimática das metaloproteinases de matriz. Adicionalmente foram avaliados: a alteração da composição orgânica e inorgânica da dentina, o padrão de fratura e as imagens obtidas por MEV.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O presente estudo utilizou espécimes de esmalte e dentina de origem bovina. Por determinação da Lei nº 11.794 de 08/10/2008 – Lei “Arouca”, não é necessária a submissão do projeto para análise do comitê de ética em pesquisa com animais, por se tratar de uma pesquisa que envolve o uso de dentes bovinos como substrato comercialmente viável.

4.2 Delineamento do estudo

Unidades experimentais: espécimes obtidos de dentes bovinos (n=108), distribuídos para o teste de resistência de união (n=90) e para a análise em FTIR (n=18).

- Fator em investigação:

- Tratamento (6 níveis):
 - a) CP (controle positivo) - Nenhum tratamento – (CP);
 - b) CN (controle negativo) - Clareamento com peróxido de hidrogênio 35%;
 - c) L1 - Ablação da dentina com Laser de Er:YAG (250mJ;20Hz;5W) sem clareamento;
 - d) L2 - Ablação da dentina com Laser de Er:YAG (250mJ;30Hz;7,5W) sem clareamento;
 - e) CL1 - Clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% e ablação da dentina com Laser de Er:YAG (250mJ;20Hz;5W);
 - CL2 - Clareamento com gel a base de peróxido de hidrogênio a 35% e ablação da dentina com Laser de Er:YAG (250mJ;30Hz;7,5W).

4.2.1 Variáveis de resposta

- a) Resistência de união em MPa (palitos de resina e dentina);
- b) Atividade enzimática das metaloproteinases de matriz por zimografia *in situ* (fatias obtidas de palitos de resina e dentina);
- c) Alteração da composição orgânica e inorgânica da dentina (espécimes de dentina).

4.3 Delineamento amostral

Para determinar a quantidade de espécimes necessários para o estudo, o potencial de influência do laser sobre a resistência de união adesiva foi considerado. O cálculo da amostra foi realizado tomando-se como parâmetros o poder de 80% e nível de significância de 5%, com base nos dados de média e desvio-padrão em MPa da resistência de união de um estudo piloto envolvendo um grupo controle ($24,37 \pm 1,054$) e tratado com clareamento + laser ($30,16 \pm 3,499$). O cálculo amostral foi realizado no software estatístico G-Power (versão 3.1 - Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Alemanha) contabilizando 12 espécimes por grupo, com efeito de tamanho $f=1,086$. Considerando-se eventuais perdas, foram utilizados 15 espécimes por grupo.

4.4 Materiais utilizados

Todos os materiais, fabricantes e composições estão listados no quadro 1.

Quadro 1 – Materiais utilizados no estudo: material, marca comercial, fabricante e composição

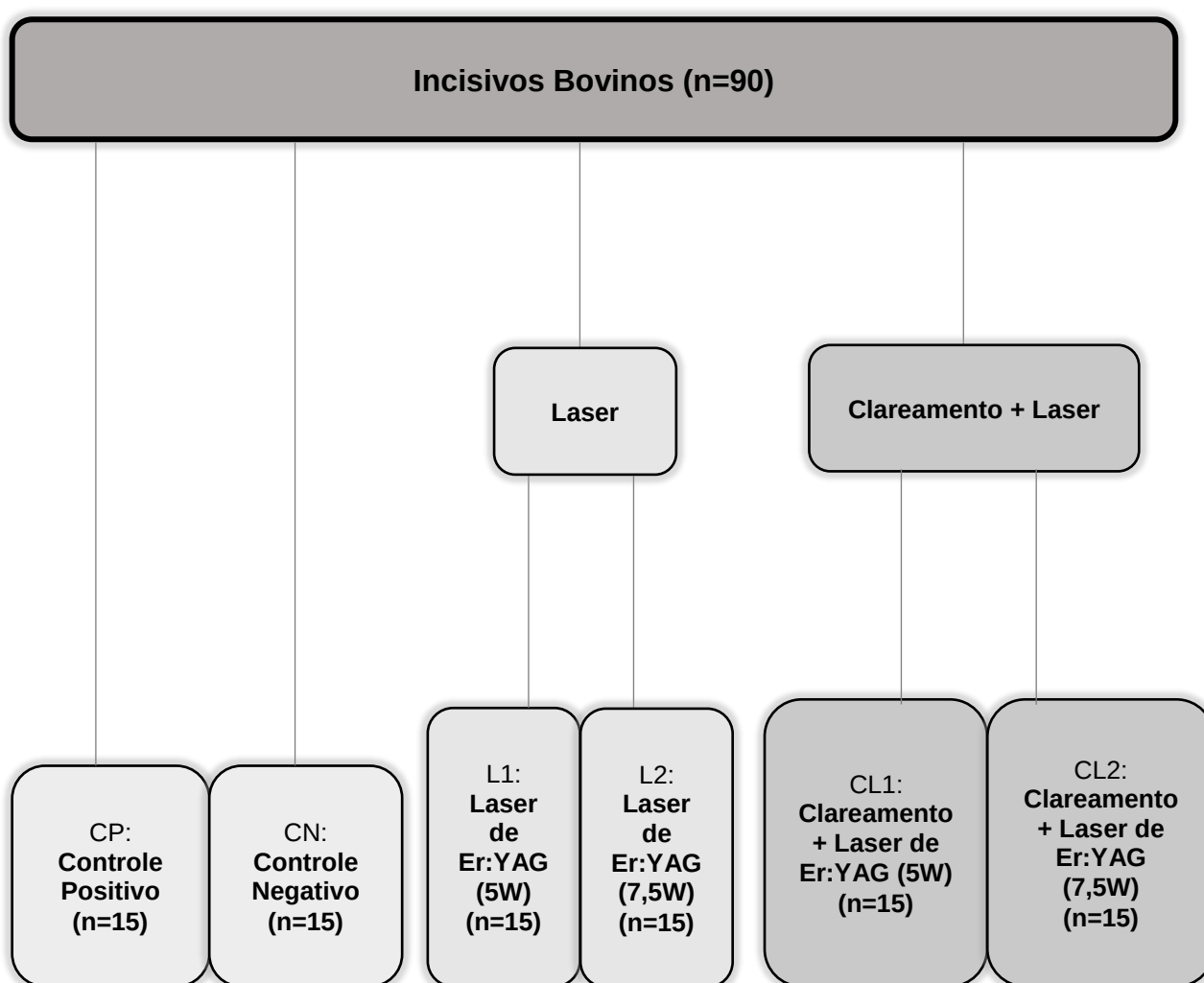
Material	Marca Comercial	Fabricante	Composição
Sistema Adesivo	Single Bond Universal (3M)	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA	Bis-GMA, metacrilato de 2-hidroxietila, sílica tratada com silano, álcool etílico, dimetacrilato de decametileno, água, metacrilato de fosfato de 1,10-decanodiol, copolímero de ácido acrílico e itacônico, canforquinona, N,N dimetilbenzocaína, metacrilato de 2-dimetilaminoetil, metil etil cetona.
Resina Composta	Filtek-Z 350XT	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, Bis-EMA, nanosílica, partículas de sílica/zircônia
Gel clareador	Whiteness HP	FGM Dental Products, Joinville SC, Brazil	35% de peróxido de hidrogênio, espessante, corante, glicol, água (pH = 6–7)
Ácido fosfórico a 37 % em gel (sem sílica)	Ataque gel	Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brazil	Ácido Orto-fosfórico 37%; Metilparabeno; corante azul (CI52015); espessante e Água Deionizada

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.1 Divisão dos grupos experimentais

Para realização do teste de microtração, os espécimes foram divididos em seis grupos (n=15), sendo um grupo de controle positivo, um controle negativo e quatro grupos experimentais. A Figura 1 mostra a divisão experimental dos grupos.

Figura 1 – Detalhamento dos grupos de pesquisa

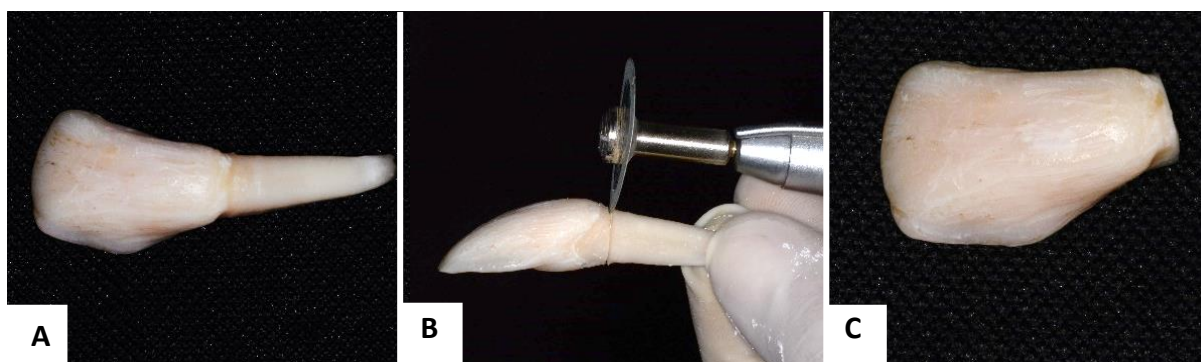


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.2 Preparo dos espécimes

Foram selecionados incisivos bovinos íntegros recém extraídos, que imediatamente após a extração foram limpos e armazenados em solução de Timol a 0,1%. Os dentes foram congelados até serem iniciados os procedimentos laboratoriais. O congelamento tem a finalidade de manter o colágeno o mais próximo possível das condições de normalidade encontradas *in vivo*. No momento do uso os dentes foram retirados do refrigerador e todas as raízes foram seccionadas com disco diamantado (Dhpro Paranagua, PR, Brasil) acoplado em peça reta (KaVo, Joinville, SC, Brasil) a aproximadamente 2 mm abaixo da junção cimento-esmalte (Figura 2).

Figura 2 – Corte dos espécimes

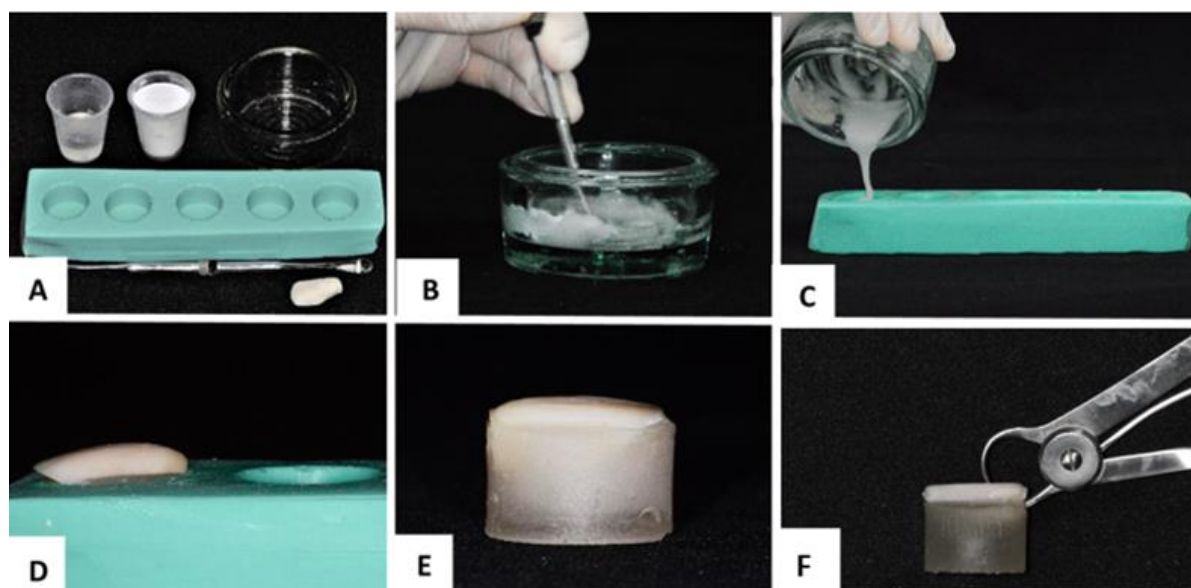


Legenda: a) dente bovino limpo e seco; b) secção da coroa e raiz; c) coroa seccionada.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No orifício do canal radicular foi realizada uma abertura, com a broca esférica 1016 HL (KG Sorensen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), para introdução de um especímetro (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil) para futura mensuração e padronização da espessura remanescente de dentina em 2 mm. Após esta etapa, o orifício foi fechado com cera utilidade e as coroas dos dentes foram embutidas em resina acrílica incolor autopolimerizável (Jet Artigos Odontológicos Clássicos LTDA., São Paulo, SP) utilizando-se de uma matriz de silicone industrial (Rhodorsil- Artigos

Odontológicos Clássico, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) como suporte, ficando a face vestibular voltada para a parte superior da matriz (Figura 3).

Figura 3 – Processo de embutimento dos espécimes em resina acrílica



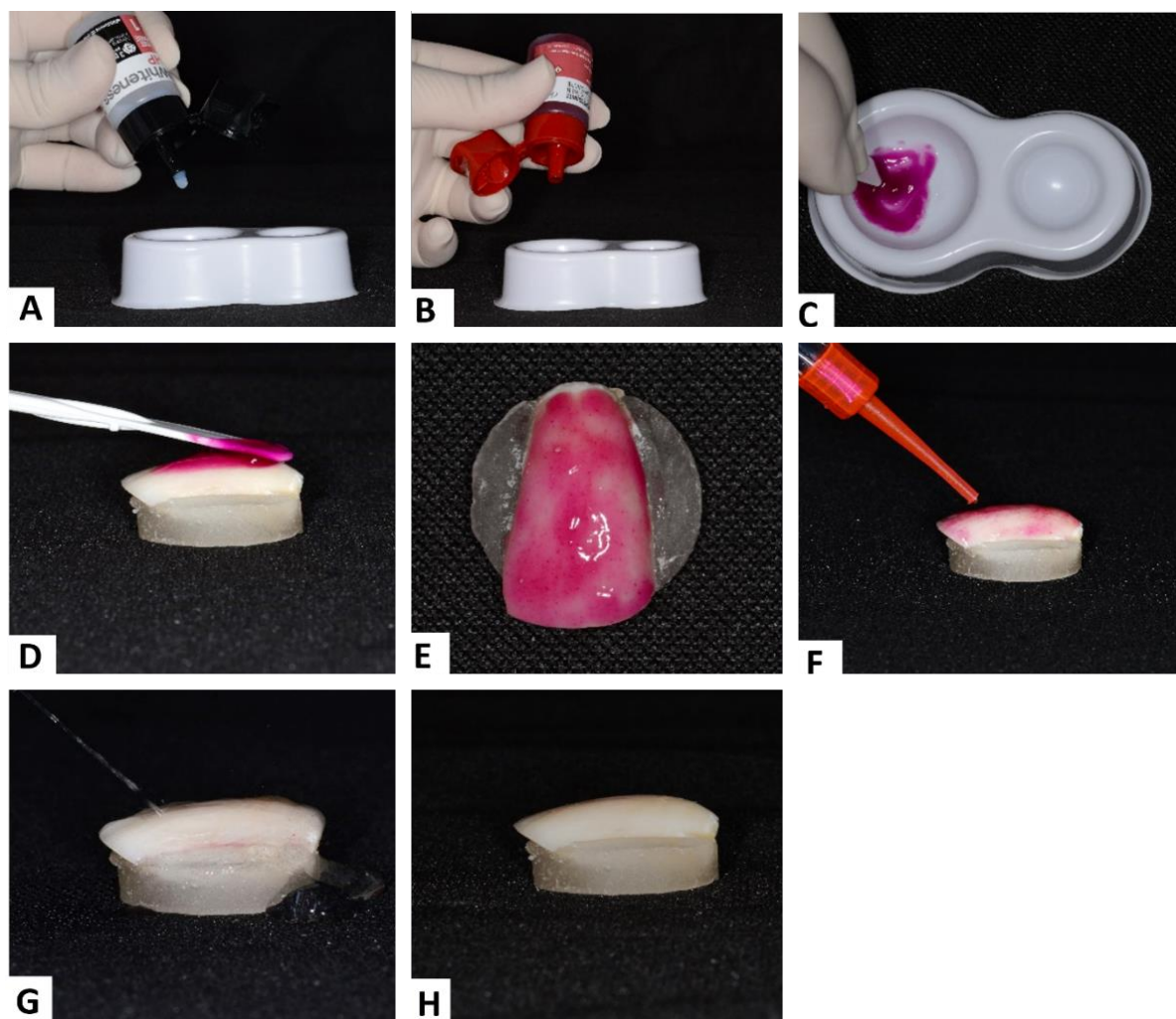
Legenda: a) materiais: resina acrílica líquida, resina acrílica em pó, pote paladon de vidro com tampa, matriz de silicone e espátula metálica; b) manipulação da resina acrílica; c) preenchimento do orifício da matriz de silicone com resina acrílica; d) espécime em posição na matriz; e) espécime embutido; f) medição com especímetro;
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.3 Tratamento clareador

O tratamento clareador foi conduzido utilizando-se gel a base de peróxido de hidrogênio a 35% Whiteness HP (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil) simulando a técnica clareadora de consultório, seguindo o protocolo de aplicação indicado pelo fabricante. Foi realizada a mistura do peróxido de hidrogênio a 35% e do espessante com a espátula plástica de aplicação que acompanha o produto até uma consistência homogênea ser atingida, seguindo a proporção recomendada pelo fabricante de 3:1 de peróxido de hidrogênio para espessante, respectivamente. Em seguida, uma fina camada de gel foi aplicada sobre a superfície dental de todos os dentes, deixada em contato por 15 minutos. Após esse tempo de espera, o gel foi

aspirado com o auxílio de um sugador. O gel foi então reaplicado, exatamente como nas etapas citadas anteriormente, até que o tempo de contato da solução em gel de peróxido de hidrogênio a 35% com a superfície dental atingisse 45 minutos, sendo três aplicações de 15 minutos cada no total. Após a terceira e última aplicação o gel foi totalmente aspirado e a superfície dental lavada com spray de ar/água durante 30 segundos com o auxílio de uma seringa tríplice, como demonstrado na figura 4.

Figura 4 – Sequência do tratamento clareador seguindo a técnica de consultório



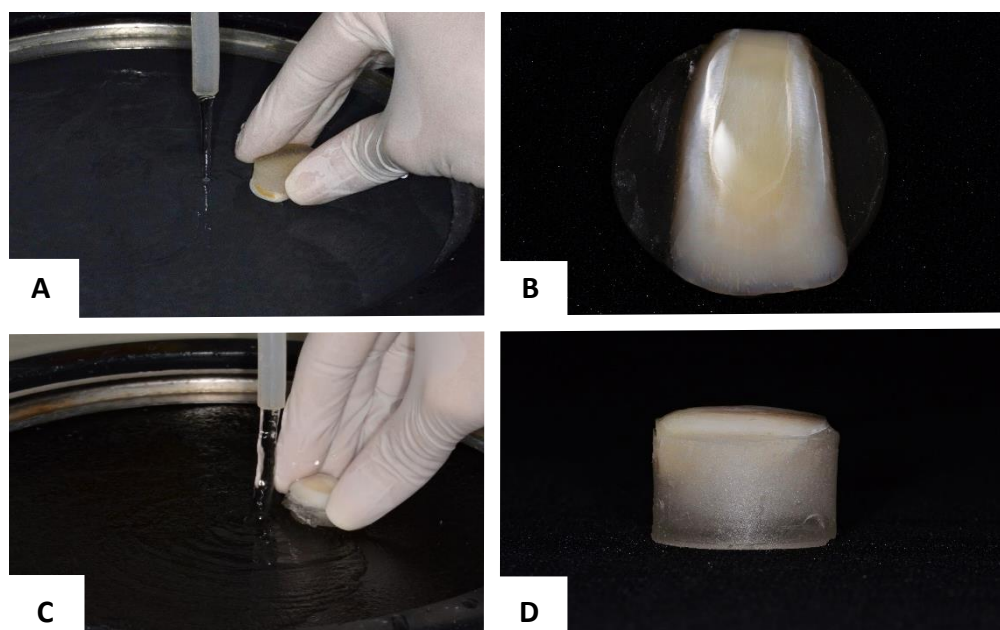
Legenda: a) peróxido de hidrogênio 35%; b) espessante; c) manipulação do gel na proporção de 3 gotas de peróxido de hidrogênio para 1 gota de espessante; d) aplicação do gel sobre o esmalte dental bovino com auxílio de espátula plástica; e) aspecto do gel aplicado sobre a superfície do esmalte; f) sucção do gel após 15 minutos de exposição sobre a estrutura com auxílio de um sugador endodôntico; g) lavagem abundante com água por 30 segundos para remoção do gel; h) aspecto final do esmalte após o clareamento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.4 Preparo dos espécimes na politriz

A base dos blocos foi preparada com lixa de granulação 400 por 2 minutos, em politriz circular com refrigeração a água (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil). Após o procedimento clareador dos espécimes pertencentes aos grupos que recebem esse tratamento (CN, CL1 e CL2), todos os espécimes tiveram as faces vestibulares aplainadas com lixa 400 em politriz circular sob constante refrigeração, para desgaste do esmalte. A dentina foi preparada com lixa de granulação 600 em politriz circular sob refrigeração por 30 segundos para padronizar a *smear layer* e a espessura da dentina remanescente em aproximadamente 2,0 mm (Figura 5).

Figura 5 – Regularização dos espécimes



Legenda: a) Desgaste do esmalte da face vestibular em lixa de granulação 400, seguida de regularização da *smear layer* da dentina com lixa de granulação 600 na politriz circular; b) aspecto do espécime após polimento da dentina; c) regularização da base de resina acrílica dos espécimes com lixa 400; d) aspecto final do espécime.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.5 Tratamento da dentina com laser de Er:YAG

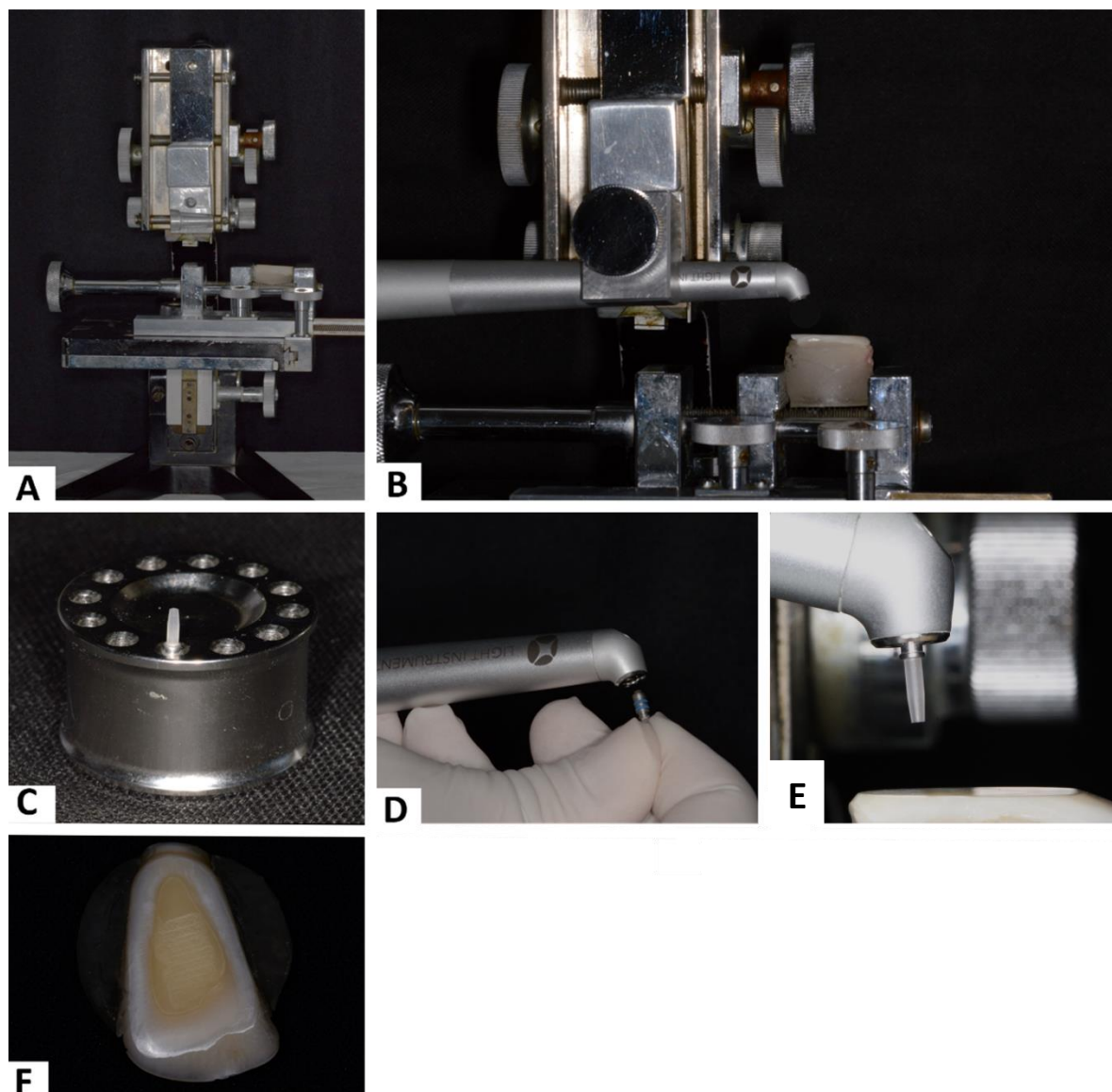
O laser de Er:YAG (LiteTouch III, Light Instruments Syneron, Yokneam, Israel) (Figura 6) tem comprimento de onda de 2.940 nm e afinidade por água e hidroxiapatita. Ele foi utilizado para a ablação da superfície dentinária a uma distância padronizada de 7 mm de altura da superfície, no modo sem contato, utilizando uma ponta de 10 x 1 mm acoplada à peça de mão do laser, perpendicular à superfície do dente. De forma a padronizar a área de dentina irradiada com o laser por 10 segundos antes do procedimento restaurador, um dispositivo adaptado de padronização de preparo cavitário foi utilizado. A superfície do substrato foi irradiada pelo laser sob resfriamento com água deionizada e ar comprimido (Figura 7). A escolha da potência do laser é feita diretamente pelo painel de menu do aparelho, clicando no tratamento desejado com valores de Energia (mJ) e frequência (Hz) pré-estabelecidos pelo *software* ou ajustando manualmente os parâmetros de energia e frequência desejados. Para esse estudo, utilizou-se 250 mJ de energia de irradiação com variação da frequência entre 20 Hz e 30 Hz.

Figura 6 – Laser de Er:YAG LiteTouch III



Legenda: Laser de Er:YAG (LiteTouch III, Light Instruments, Syneron, Yokneam, Israel).
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7 – Irradiação da dentina com o laser de Er:YAG LiteTouch III



Legenda: a) dispositivo adaptado de padronização de preparo cavitário; b) peça de mão do laser acoplada ao dispositivo de padronização de preparo cavitário; c) ponteira de 10x1 mm; d) encaixe da ponteira na peça de mão; e) posicionamento do laser em relação ao substrato dentinário; f) aspecto da superfície dentinária após a irradiação com o laser de Er:YAG.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O cálculo da densidade de energia do laser foi feito levando em consideração o raio do diâmetro da fibra (r^2); a área a ser irradiada (cm^2); a densidade de energia em Joule (D) = $0,1J / A$; e tempo em segundos (T) = densidade desejada $J/\text{cm}^2 / A$, a fim de atingir a área desejada com a correta potência em única aplicação, resultando em 10s de aplicação. A partir do piloto

prévio optou-se pelos parâmetros: 250 Q[mJ]; 20 fp[Hz] e 30fp[Hz]; 5.0 Pav[W]; 7.5 Pav [W] durante 10s numa área de aproximadamente 2 cm². A densidade de energia depositada foi calculada pela fórmula:

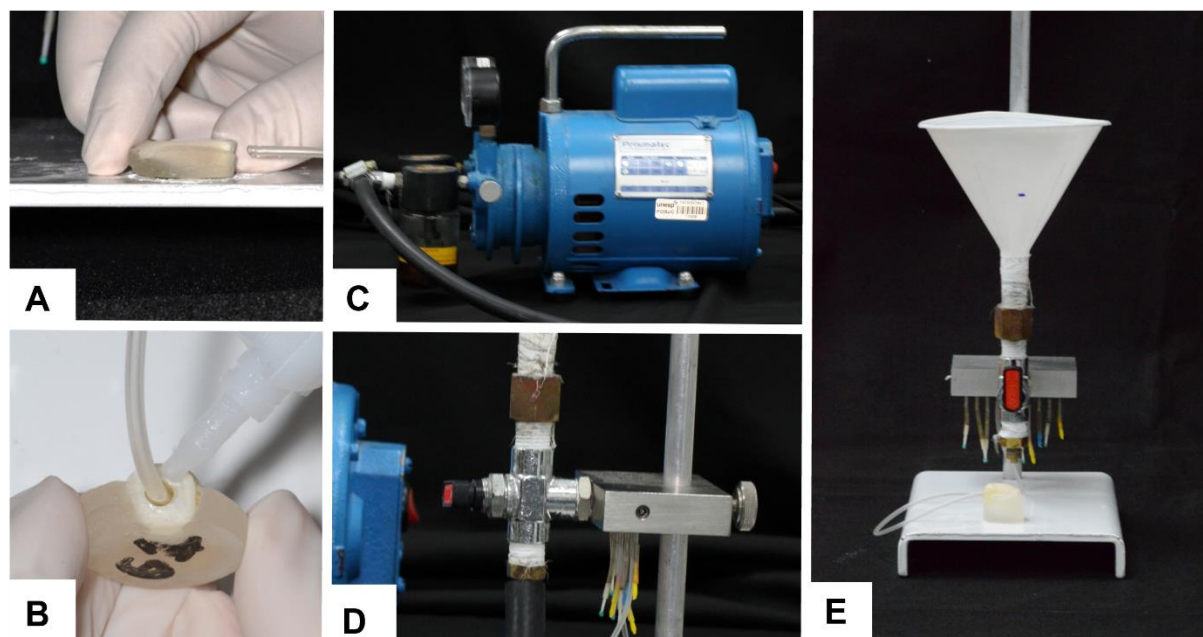
$$D = \text{Potência (W)} \times \text{Tempo (s)} / \text{Área (cm}^2\text{)}.$$

Sendo assim, as densidades de energia depositadas utilizadas nesse estudo foram de 25 J/cm² para os grupos L1 e CL1 e de 37,5 J/cm² para os grupos L2 e CL2.

4.4.6 Simulação da pressão pulpar

As amostras foram submetidas à técnica restauradora com simulação de pressão pulpar, de 15 cm de H₂O, por meio dos métodos propostos por Mitchem et al. (1988) e Sauro et al. (2007), adaptados para este estudo. Foi utilizado um tubo de polietileno de 20 cm de comprimento, conectado a um tubo de metal acoplado a um funil, erguido sobre uma haste metálica. Dentro desse funil continha água deionizada e a altura a partir da superfície da água foi ajustada para 15 cm, resultando em uma pressão de 15 cm de H₂O (Sauro et al., 2007; Hiraishi et al., 2009). Isto permite que a câmara pulpar seja preenchida com água deionizada para simular a condição *in vivo* da dentina completamente hidratada. Um tubo de polietileno foi fixado ao interior da câmara pulpar e o orifício da saída do canal foi selado com cola a base de cianoacrilato (Super Bonder, Loctite, Itapevi, São Paulo, Brasil). Para garantir que a câmara pulpar fosse completamente preenchida por água, acoplou-se uma bomba de vácuo ao dispositivo de simulação de pressão pulpar a fim de remover todo ar de dentro da câmara pulpar antes da válvula de água ser ligada. A técnica é ilustrada através da Figura 8.

Figura 8 – Simulação da pressão pulpar



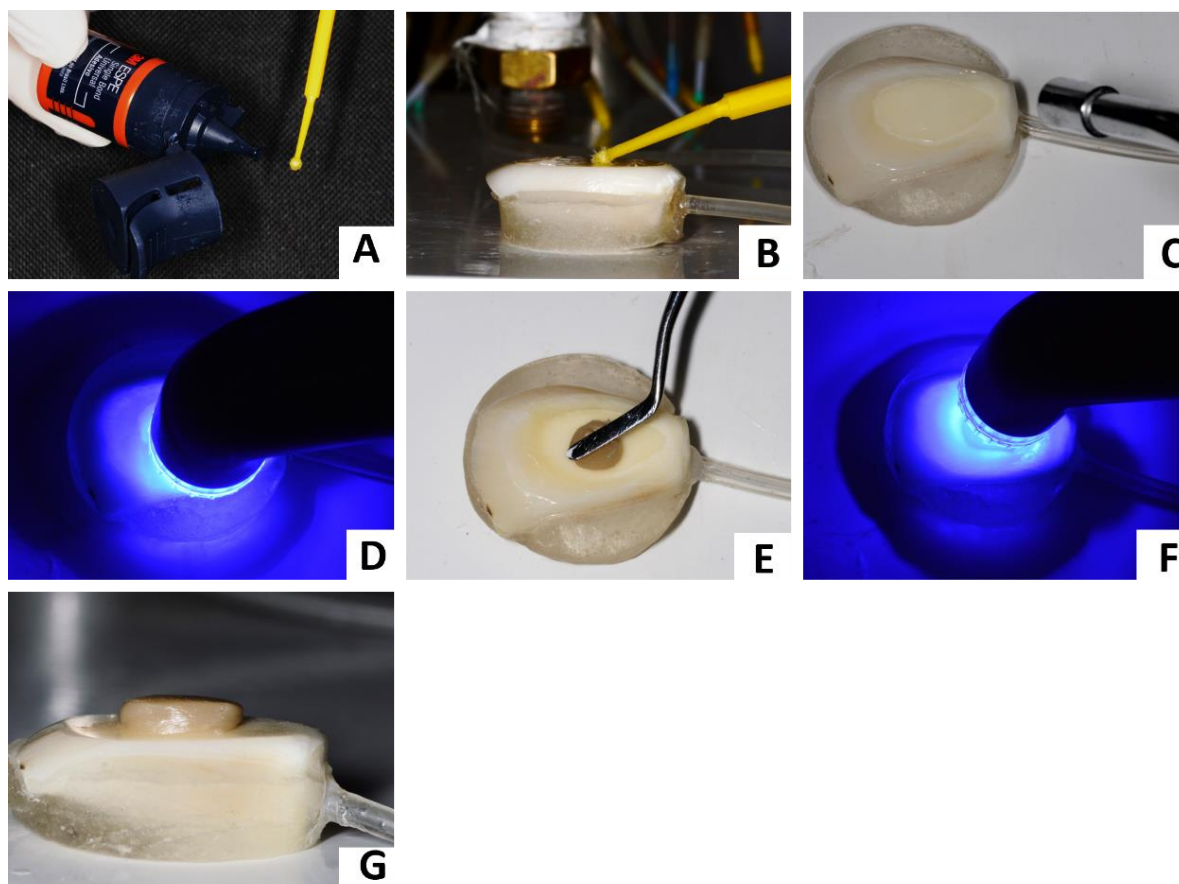
Legenda: a) colocação do tudo de polietileno dentro da abertura radicular; b) selagem do orifício radicular com o tubo em posição utilizando uma cola a base de cianoacrilato; c) bomba de vácuo; d) bomba de vácuo acoplada ao dispositivo de pressão pulpar simulada para remoção do ar; e) dispositivo adaptado para simulação de pressão pulpar com altura previamente padronizada em 15 cm.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.7 Técnica restauradora

A aplicação do sistema adesivo Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi realizada sobre a dentina exposta de forma ativa durante 20 segundos e em seguida foi utilizado jato de ar para evaporação do solvente. Esse processo foi repetido para a segunda camada de adesivo. Posteriormente, foi feita a fotopolimerização do adesivo por 20 s. Em seguida, foram adicionados 3 incrementos de 1,5 mm de espessura da resina composta nanoparticulada (Filtek Z 350 XT - 3M-ESPE) em todos os espécimes, que foram fotoativados, um de cada vez, por 20 s, a uma distância padronizada, com o aparelho fotopolimerizador de LED Radii-cal (SDI, Victoria, Austrália), emissor de luz azul, com comprimento de onda que varia entre 440 nm a 480 nm com uma densidade de potência de 1200 mW/cm² (Figura 9).

Figura 9 – Técnica Restauradora



Legenda: a) adesivo universal; b) aplicação do adesivo de forma ativa por 20 s sobre a superfície dentinária; c) secagem com jato de ar para evaporação do solvente; d) fotoativação por 20 s. e) aplicação da camada de resina composta; f) fotoativação por 20 s da primeira camada de resina composta; g) aspecto final da restauração após os três incrementos de 1,5 mm de resina composta após a fotoativação.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.8 Seleção das amostras para o teste de resistência de união

Os espécimes obtidos de 90 incisivos bovinos recém extraídos que receberam o tratamento restaurador foram armazenados em água deionizada na estufa a 37°C por 24h até o momento de preparo para o teste de resistência de união para completa polimerização da resina composta.

4.4.9 Teste de resistência de união

As amostras foram levadas para o corte do bloco de resina composta/dentina na cortadeira Labcut 1010 (Extec, Enfield, CT, USA), onde os mesmos foram posicionados em dispositivo circular localizado na parte superior da máquina e fixados com parafusos dispostos ao longo do mesmo, tendo-se o cuidado de mantê-los paralelos ao disco de corte da cortadeira. Os cortes foram realizados no sentido cérvico-incisal e mésio-distal, incluindo resina composta e dentina. A distância entre os cortes foi padronizada por três voltas da cortadeira para todas as secções, de forma a se obter fatias de dimensões laterais próximas com variação entre 0,8 e 1,0 mm. Este procedimento foi repetido por cinco vezes, obtendo-se desta forma quatro fatias no sentido cérvico-incisal. Em seguida, o dente foi girado, para que se procedesse ao mesmo número de cortes no sentido mésio-distal (Fonseca, 2012). Os palitos foram devidamente identificados e separados, correspondendo cada grupo de palitos a uma respectiva amostra. As bordas da amostra foram descartadas e, apenas, os palitos que se apresentavam em formato retangular, com dentina e resina composta de forma nítida, foram considerados (Figura 10).

Para o teste de microtração, cada palito foi medido com um paquímetro digital para obtenção das medidas dos seus dois lados e, dessa forma, cada valor de área foi anotado, individualmente, para utilização no momento do teste (Figura 11). Cada palito foi colado com cola Loctite 454 (Henkel, Itapevi, SP, Brasil) pelas extremidades no dispositivo para o teste, posicionados, paralelamente, ao longo eixo da força de tração e devidamente numerados para evitar equívocos quanto ao grupo pertencente. Aguardou-se 24h antes de submetê-los ao ensaio de microtração, para a perfeita secagem da cola. Para o teste de microtração, na máquina de ensaios universais EMIC DL-1000 (Equipamentos e Sistemas Ltda., São José dos Pinhais, PR, Brasil) a carga utilizada foi a célula de 10 kgf, na velocidade de 0,5 mm/min, conforme ISO/TR 11405:1994. Os dispositivos para os palitos foram posicionados na máquina de teste e submetidos ao ensaio, registrando-se os valores de resistência no visor da máquina de ensaios universais (Figura 12). Estes valores foram

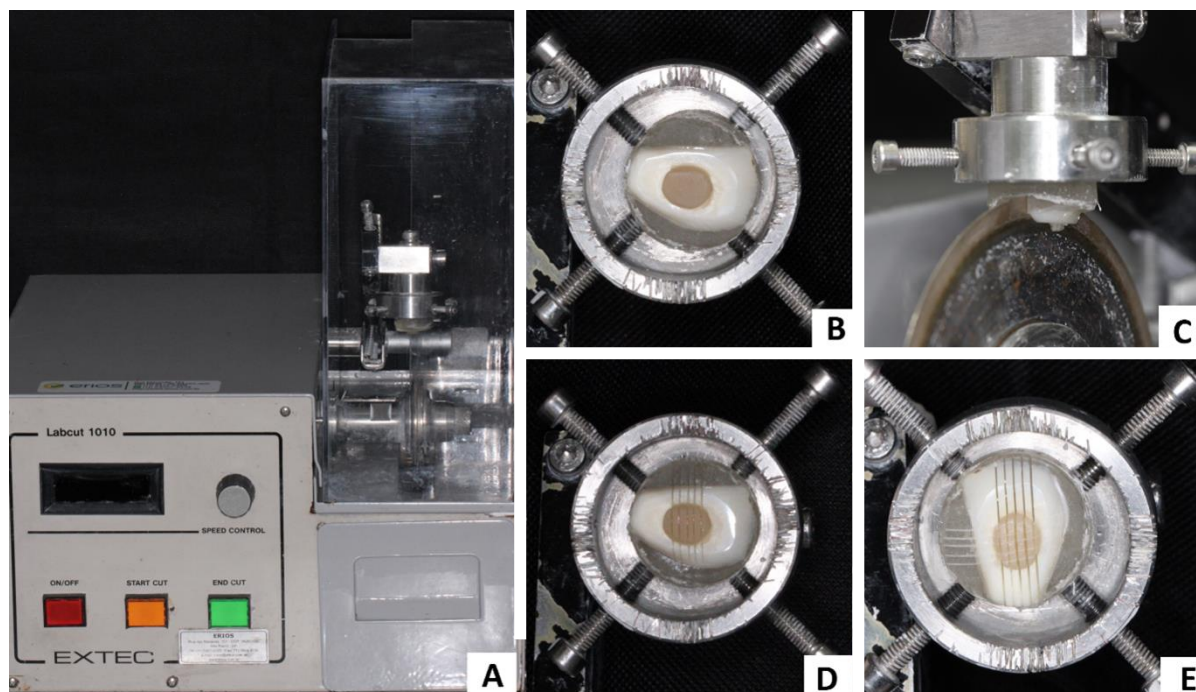
anotados individualmente para cada palito, tendo-se ao final do ensaio todos os dados coletados em MPa. A resistência de união foi calculada em MPa pela fórmula:

$$\delta = F/A$$

Onde, δ é a força de união à microtração, F é a força aplicada e A é a área de união entre resina – adesivo – dentina. Ao final do ensaio as partes fraturadas foram limpas, secas e então analisadas quanto ao padrão de fratura em estereomicroscópio ótico com aumento de 40x (Zeiss, stereO Discovery V20, Göttingen, Germany), para a classificação quanto ao tipo de fratura. As falhas pré-teste e fraturas coesivas em resina e dentina não foram consideradas.

- Adesiva - Para fraturas em que a falha ocorre na interface adesivo-estrutura dental ou na interface entre o adesivo e a resina composta, em mais de 75% da área analisada.
- Coesiva em resina - Para fraturas em que a falha ocorre predominantemente no interior da resina composta, cerca de 75%.
- Coesivas na estrutura dental - Para fratura em que a falha ocorre predominantemente no interior da estrutura dental, cerca de 75%.
- Mista - Para fraturas nas quais não existiu uma predominância maior que 75% de qualquer tipo de falha.

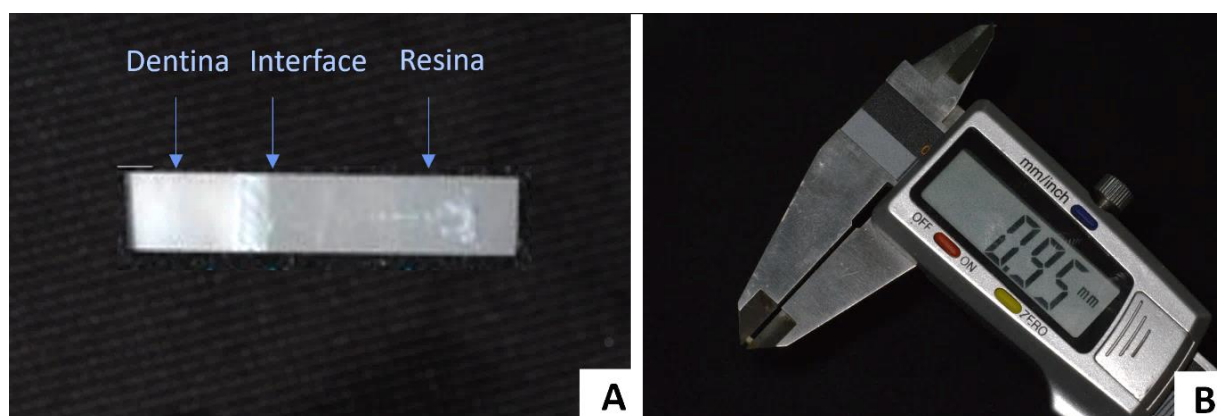
Figura 10 – Preparação para teste de microtração



Legenda: a) LabCut 1010; b) posicionamento dos corpos de prova na máquina de cortes seriados Labcut 1010; c) secções paralelas realizadas ao longo eixo do dente nos sentidos méso-distal e vestibulo-lingual; d) visão frontal das secções méso-distais; e) visão frontal das secções méso-distal e vestibulo-lingual.

Fonte: Elaborado pelo autor.

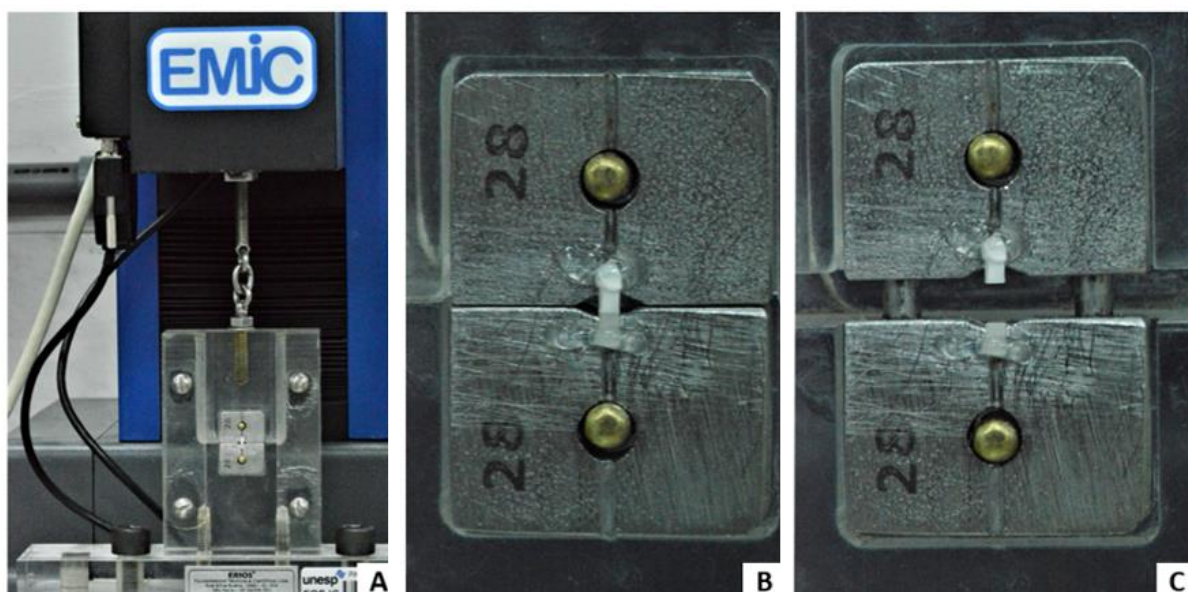
Figura 11 – Aspecto dos palitos



Legenda: a) aspecto do palito, mostrando o substrato dentinário, a interface adesiva e a porção de resina composta; b) medição da interface dos palitos com paquímetro digital.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 12 – Teste de microtração.



Legenda: a) palito colado ao dispositivo metálico e acoplado na Máquina de Ensaio Universais EMIC DL-1000; b) aspecto do palito antes do teste de microtração; c) aspecto do palito levado à falha da interface adesiva pelo teste de microtração.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Um palito de cada grupo foi aleatoriamente selecionado para análise da superfície dentinária em MEV. A análise foi feita após as fraturas dos palitos com fraturas adesivas. Para a análise da interface adesiva os espécimes foram lixados por 30 s com a sequência de lixas de granulação 800, 1200, 2500 e 4000, respectivamente, para remoção de debris superficiais e condicionados com ácido fosfórico a 37% sem sílica (Ataque gel, Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brazil) por 10 s. Previamente às análises, os espécimes foram fixados em um dessecador contendo sílica gel, onde permaneceram durante 15 dias para remoção da umidade e posteriormente foram revestidos com ouro para aumentar a condução elétrica, reduzir a penetração do feixe e melhorar a resolução. Os espécimes foram analisados em Microscopia Eletrônica de Varredura (FEI Inspect S50, FEI Company, Hillsboro, OR, EUA) nas magnificações de 2.500x e 5.000x a uma voltagem de aceleração de 25 kV e distância de trabalho de 10 μm .

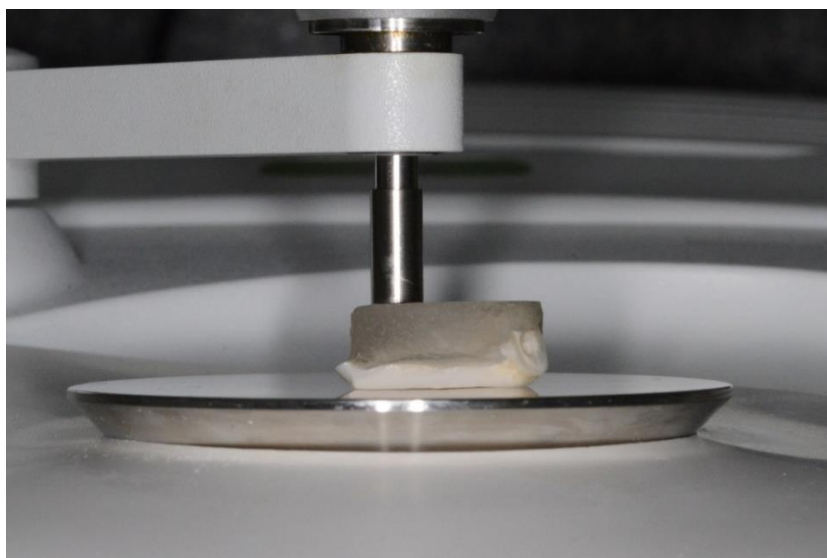
4.4.11 Atividade das metaloproteinases de matriz por Zimografia *in situ*

A zimografia *in situ* é uma técnica laboratorial que permite a rápida localização de atividade das metaloproteinases de matriz (MMPs) nos cortes histológicos. A técnica utiliza gelatina conjugada com fluoresceína como substrato para identificar a localização e as atividades de enzimas endógenas ativadas nas interfaces resina-dentina. A atividade gelatinolítica é expressa pela porcentagem da interface resina-dentina que exibe fluorescência verde. Para a observação em Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MCVL) utilizando a técnica da zimografia *in situ*, foram selecionados cinco espécimes de cada grupo. Os espécimes foram preparados da mesma maneira que os que foram preparados para o teste de microtração descritos anteriormente, entretanto algumas fatias selecionadas aleatoriamente foram coladas em uma lâmina de vidro e desgastadas com lixas de granulação 1200 até 4000 (Fepa-P, Extec, Enfield, CT, USA), na politriz circular (Ecomet 3 - Buehler USA) para obter uma espessura de 0,5 mm. A zimografia *in situ* foi realizada com utilização da gelatina conjugada com fluoresceína (EnzCheck kit) como substrato para MMP seguindo as instruções do fabricante (E-12055, Molecular Probes, Eugene, OR, EUA). A solução de gelatina foi diluída 1:8 com a solução tampão de diluição (NaCl 150 mM, CaCl₂ 5 mM, Tris-HCl 50 mM, pH 8,0), e adicionada a um agente anti-desvanecedor (Meio de Montagem com Dapi H-1200, Vectashield, Vector Laboratories LTD, Cambridgeshire, Reino Unido). Foi colocada uma quantidade de 50 µl da mistura fluorescente de gelatina sobre cada espécime que foram cobertos com uma lamínula. As lâminas foram protegidas contra a luz e incubadas em câmaras umidificadas a 37°C por 24 h. A hidrólise do substrato de gelatina conjugada com fluoresceína foi avaliada por Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MCVL) multi-foton, ex: 488 nm e em: 530 nm (Zeiss, LSM 780, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). Secções ópticas de 10 µm de espessura foram adquiridas a partir de diferentes planos focais, e as imagens empilhadas foram analisadas, quantificadas e processadas com o software ZEN 2010 (Carl Zeiss) e Image J (Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland).

4.4.12 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

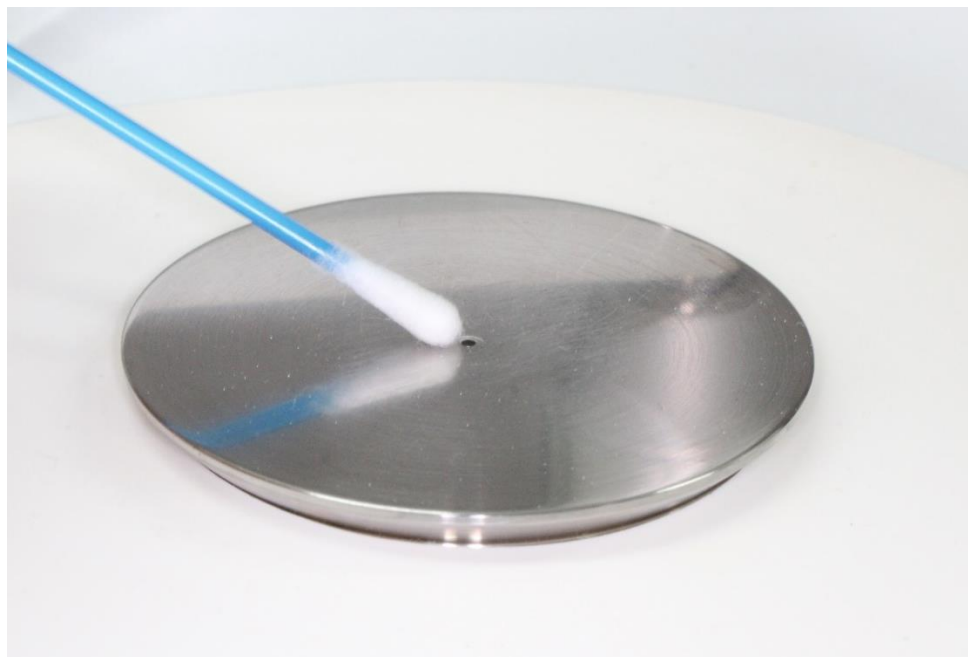
Espécimes adicionais foram utilizados para a análise em FTIR (n=18). A dentina foi avaliada por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR, PerkinElmer Spectrum, MA, EUA) equipado com um acessório de reflexão total atenuada (ATR) em 4 momentos distintos para a mesma amostra a fim de obter informações sobre seu conteúdo orgânico e inorgânico frente a cada tratamento. As leituras foram realizadas em três áreas distintas da amostra. Para a análise em ATR-FTIR, a superfície de dentina exposta da amostra foi posicionada sobre a superfície do ATR e pressionada por um dispositivo de carga plana de 100 gf, para se obter o maior contato do espécime com o cristal de diamante do ATR, limpo de maneira prévia a leitura com bastonetes (Cotonetes, Johnson & Johnson, New Jersey, EUA) embebidos em álcool isopropílico (Figuras 13 e 14). Os espectros de infravermelho foram obtidos através do software Spectrum (versão 10.4.3, PerkinElmer Waltham, Massachusetts, EUA). O modo selecionado foi de Absorbância, com faixa de absorção entre 4000 e 650 cm^{-1} , sendo 32 varreduras, a uma resolução de 4 cm^{-1} .

Figura 13 – Posicionamento do espécime no ATR



Legenda: posicionamento do espécime no cristal ATR.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14 – Limpeza do ATR



Legenda: limpeza do cristal ATR com auxílio de um bastonete embebido em álcool isopropílico.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Delineamento estatístico

Os dados de resistência de união foram organizados inicialmente através da estatística descritiva, pelos valores de média e desvio-padrão. Em seguida, os mesmos foram analisados quanto a sua normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene). Observou-se que os dados não seguiram distribuição normal. O teste Kruskal-Wallis e de comparações múltiplas Dwass-Steel-Critchlow-Fligner foram utilizados, empregando o software Jamovi versão 2.3 (The Jamovi Project, 2022). A hipótese de nulidade em investigação foi de que os diferentes tratamentos com laser não anulam os efeitos deletérios do clareamento na resistência de união.

Para os dados de zimografia *in situ* os dados foram organizados através da estatística descritiva, pelos valores de média e desvio-padrão e em seguida, os dados foram analisados quanto a normalidade e homocedasticidade. Como estes seguiram distribuição normal, realizou-se o teste ANOVA a um fator e teste post-hoc

de Tukey com nível de significância a 5% utilizando o software Jamovi versão 2.3 (The Jamovi Project, 2022). A hipótese de nulidade em investigação foi de que os diferentes tratamentos com o laser não inibem a atividade de metaloproteinases de matriz.

4.5.1 Hipóteses nulas testadas

O laser de Er:YAG:

H₀₁ – não anula os efeitos deletérios do clareamento na resistência de união;

H₀₂ – não inibe a atividade das metaloproteinases de matriz após o tratamento clareador;

5 RESULTADOS

5.1 Resistência de união à microtração

Os valores descritivos de mediana e medidas de variabilidade [1ºQ; 3ºQ] da resistência de união em MPa dos diferentes grupos avaliados estão descritos na tabela 1.

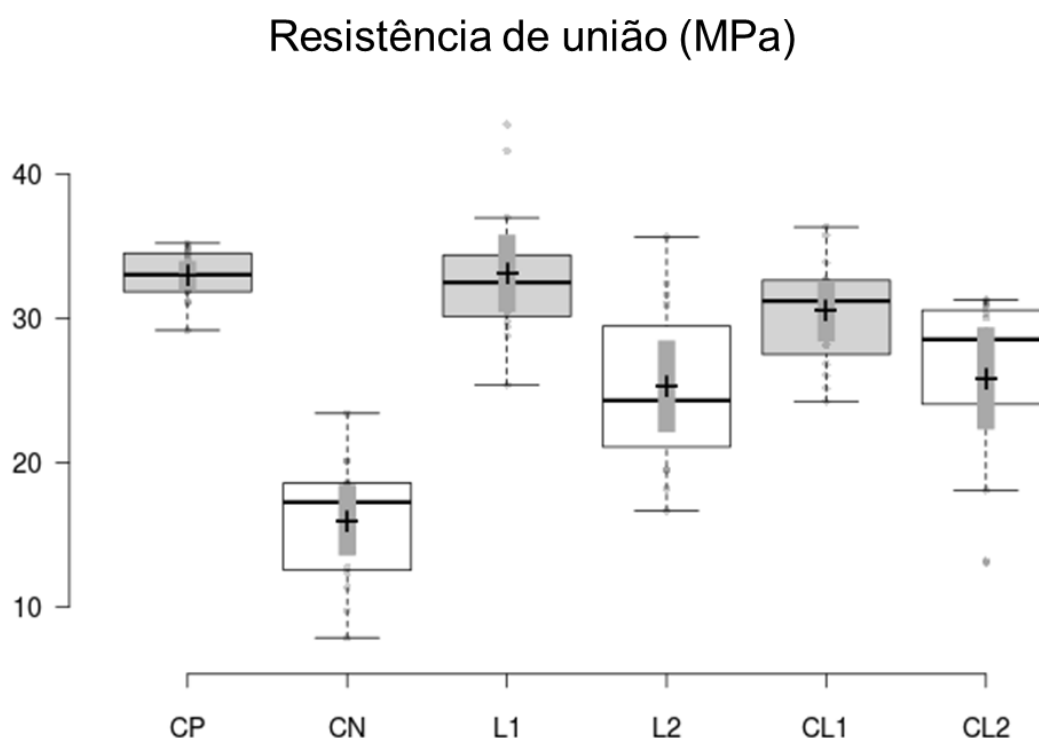
Tabela 1 – Dados descritivos de mediana e medidas de variabilidade da resistência de união (em MPa)

Grupos	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Percentis	
					25th	75th
CP	33.0	33.0	29.17	35.2	31.8	34.5
CN	16.0	17.3	7.85	23.4	12.5	18.6
L1	32.9	32.5	25.38	41.7	30.1	34.4
L2	26.2	26.4	18.66	35.6	21.1	31.3
CL1	30.6	31.2	24.24	36.3	27.5	32.6
CL2	24.9	28.5	11.33	31.3	20.4	30.6

Legenda: grupos; média; mediana; mínimo; máximo; (25th): primeiro quartil; (75th): terceiro quartil.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No Gráfico 1 encontra-se a mediana e percentis dos valores de resistência de união.

Gráfico 1 – valores de resistência de união à microtração



Legenda: Gráfico box-plot representando os valores em MPa da resistência de união. (CN): grupo controle positivo (sem tratamento); (CN): grupo controle negativo (clareamento); (L): grupo laser 25J/cm²; (L2): grupo laser 37,5 J/cm²; (CL1): grupo clareado + laser 25J/cm²; (CL2): grupo clareado + grupo laser 37,5 J/cm².

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de análise de variância Kruskal-Wallis ($p < 0,001$) seguido do teste post-hoc Dwass-Steel-Critchlow-Fligner para comparações múltiplas, descritos nas tabelas 2 e 3 respectivamente.

Tabela 2 – Teste de Kruskal-Wallis

	χ^2	Grau de liberdade	Valor de p
MPa	50.3	5	< .001

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3 – Diferença estatística entre os grupos

Grupos	Mediana [1ºQ;3ºQ]
CP	33,0 [31,8;34,5] ^A
CN	17,3 [12,5;18,6] ^C
L1	32,5 [30,1;34,4] ^A
L2	26,4 [21,1;31,3] ^B
CL1	31,2 [27,5;32,6] ^{AB}
CL2	28,5 [20,4;30,6] ^B

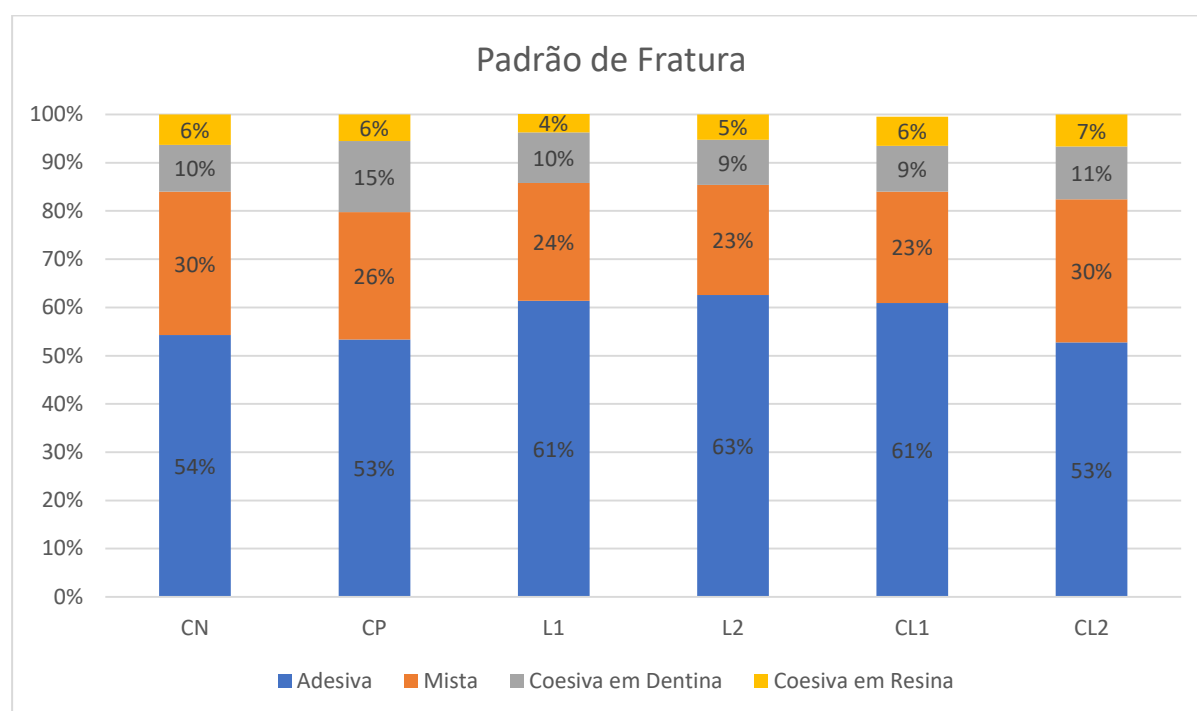
Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com os resultados obtidos a maior mediana foi observada no grupo CP, que não difere estatisticamente dos grupos L1 e CL1, sendo $CP \geq L1 \geq CL1$, indicando que o laser aplicado a uma densidade de energia depositada de 25 J/cm² foi capaz de aumentar os valores de resistência de união em restaurações confeccionadas de forma imediata após o clareamento. O resultado obtido para o grupo CN foi significativamente mais baixo que o grupo CP e estatisticamente diferente de todos os grupos. O grupo L2 se assemelha estatisticamente ao grupo CL2 e CL1, sendo $CL1 \geq L2 \geq CL2$, indicando que a densidade de energia depositada do laser de 37,5 J/cm² associado ao clareamento ou não, aumentou os valores de resistência de união, se comparados ao grupo controle negativo, mas não alcançou valores de resistência de união estatisticamente semelhantes ao grupo controle positivo.

5.2 Padrão de Fratura

O Gráfico a seguir mostra a porcentagem de padrão de fratura dos palitos após o teste de microtração para cada grupo.

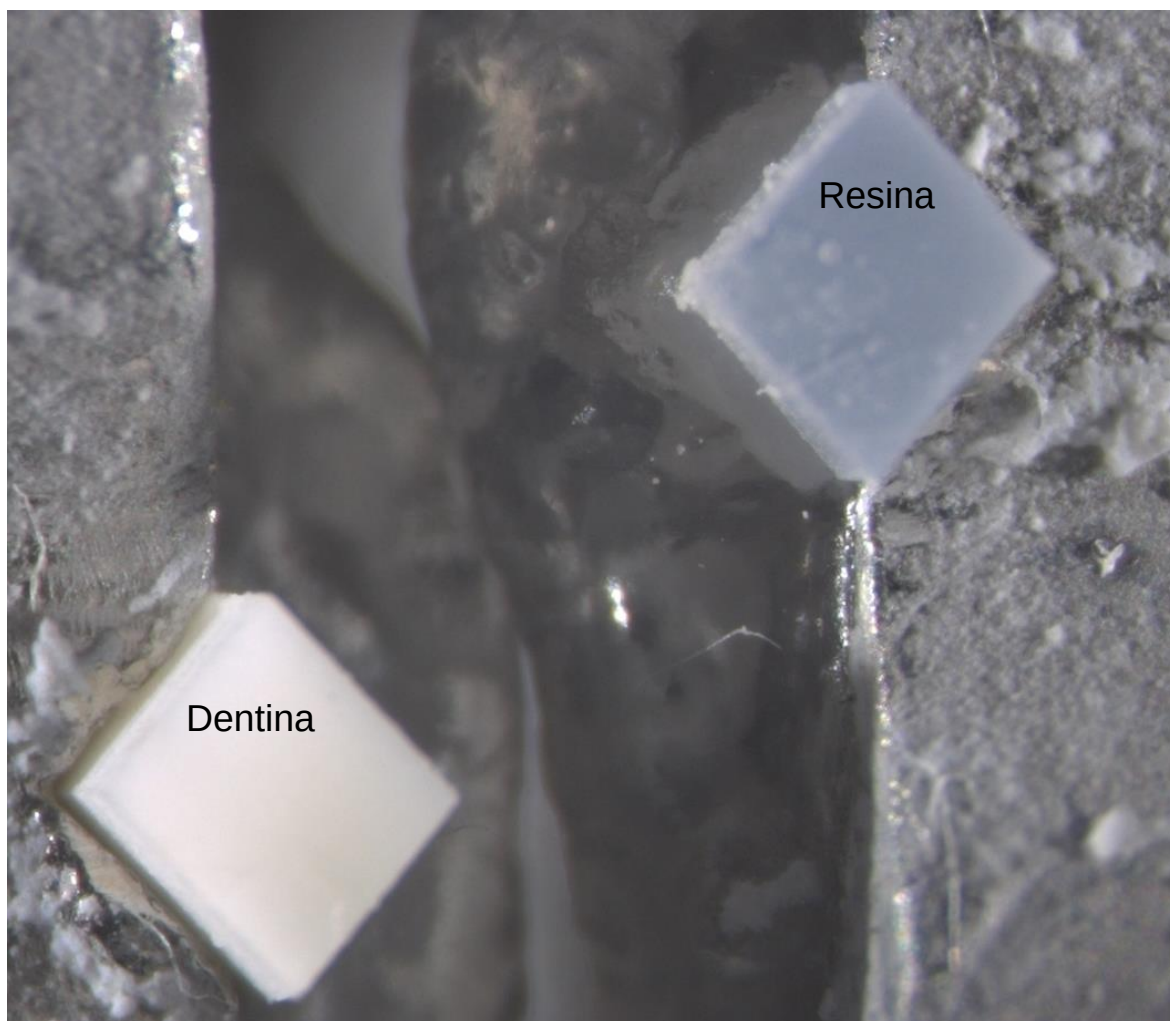
Gráfico 2 – Análise quantitativa do padrão de fratura



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observa-se predominância dos tipos de fraturas adesiva e mista, sobre os tipos de fraturas coesivas. As imagens obtidas pelo estereomicroscópio óptico (Stemi 2000-C, ZEISS, Oberkochen, Alemanha) da análise do padrão de fratura dos palitos fraturados são ilustradas pelas Figuras 15 e 16. A Figura 15 mostra a fratura do tipo adesiva em um aumento de 40x.

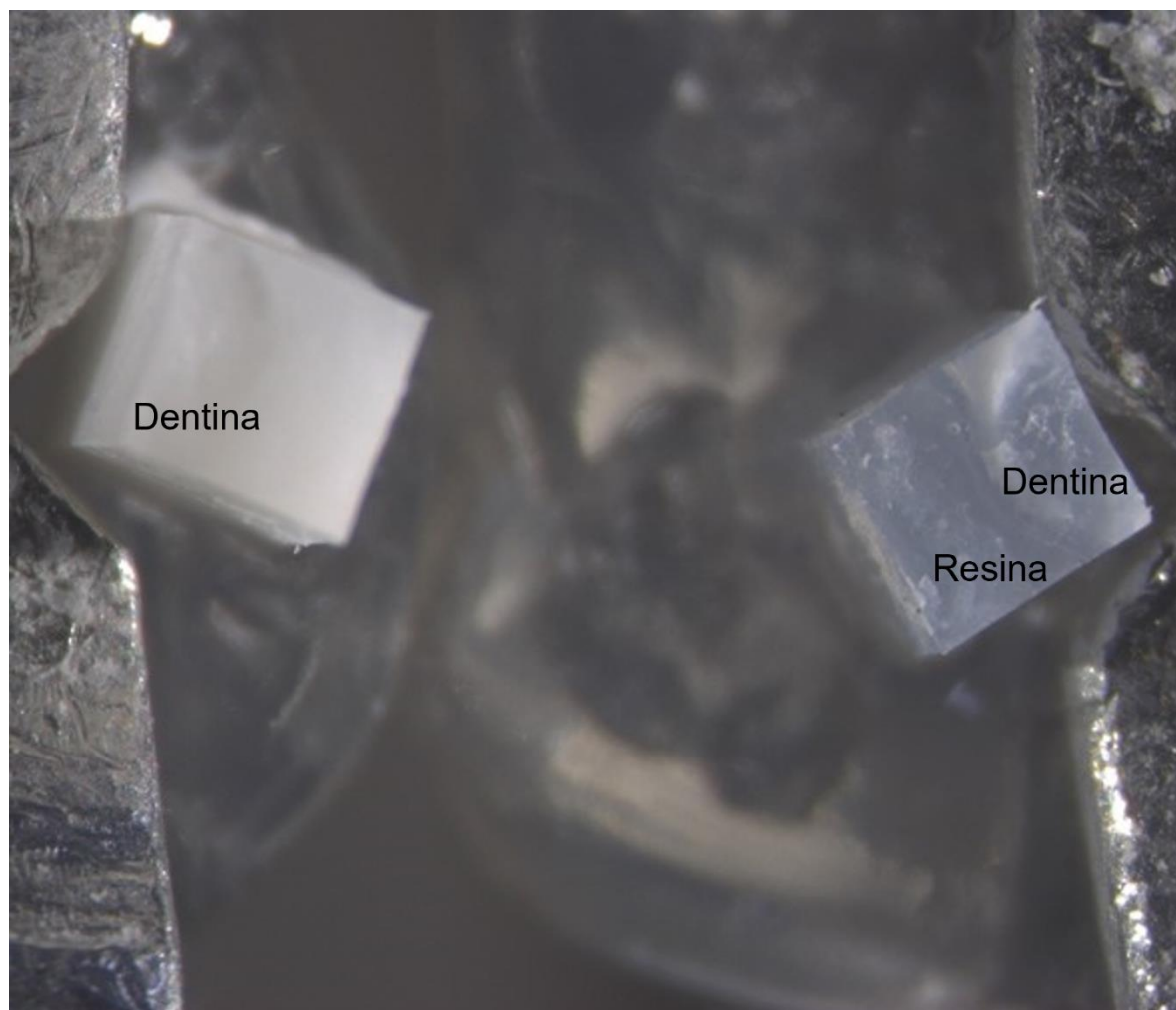
Figura 15 – Fratura adesiva



Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura a seguir mostra a imagem de um palito fraturado em aumento de 40x onde se observa uma fratura do tipo mista.

Figura 16 – Fratura mista

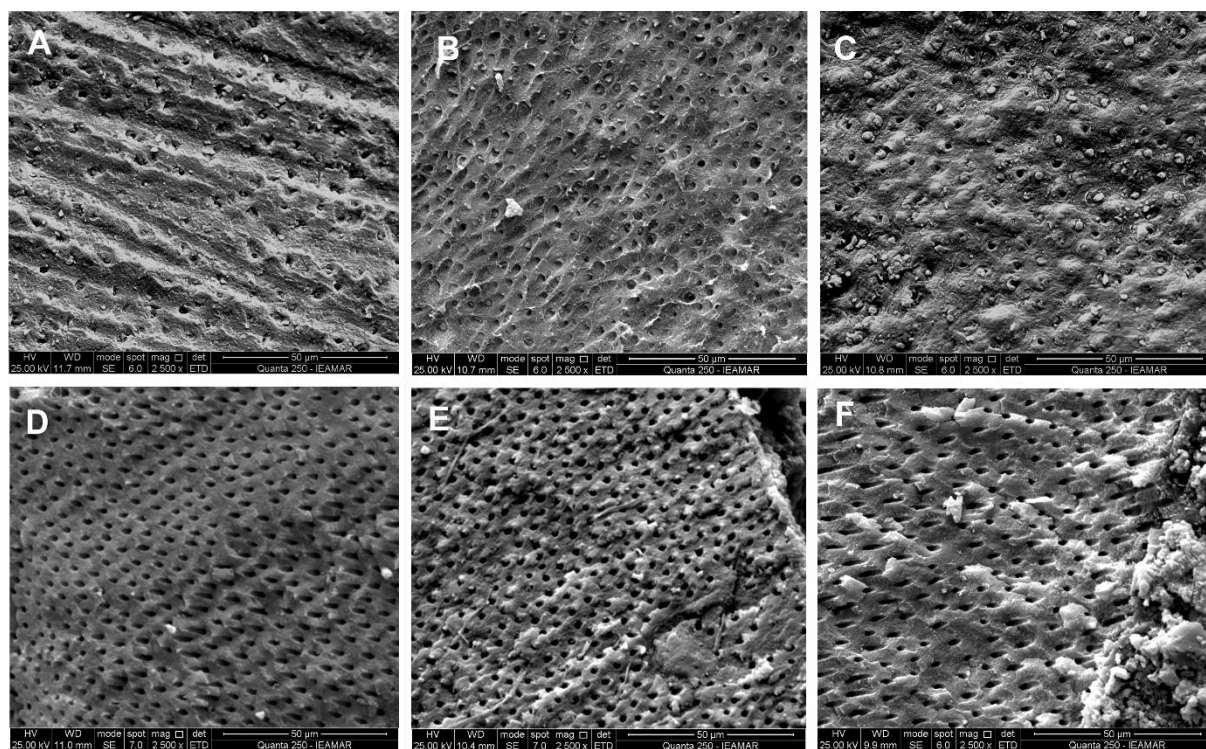


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise qualitativa realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura auxiliou na obtenção de imagens com aumento original de 2.500x e 5.000x dos grupos testados. As análises da superfície dentinária e da interface de união com os diferentes tratamentos são ilustradas nas figuras 17, 18 e 19.

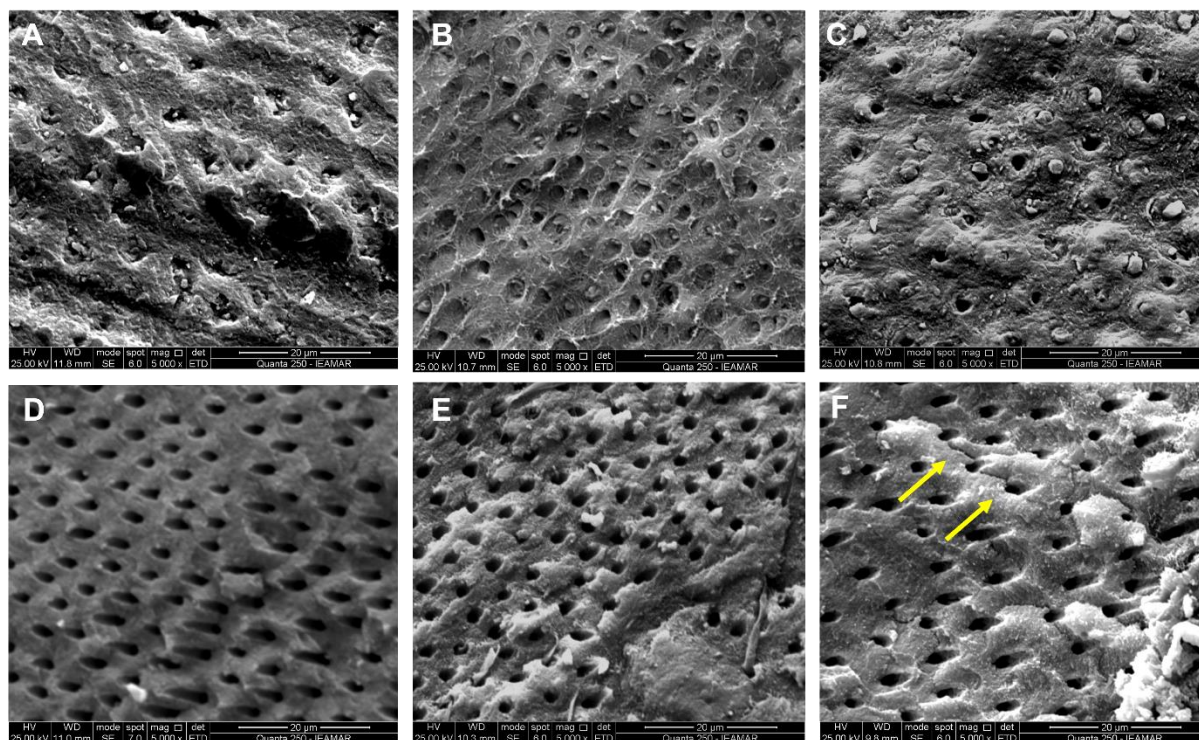
Figura 17 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície dentinária 2500x



Legenda: a) grupo controle positivo; b) grupo controle negativo; c) grupo laser 1; d) grupo laser 2; e) grupo clareado e laser 1; f) grupo clareado e laser 2;

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície dentinária 5000x

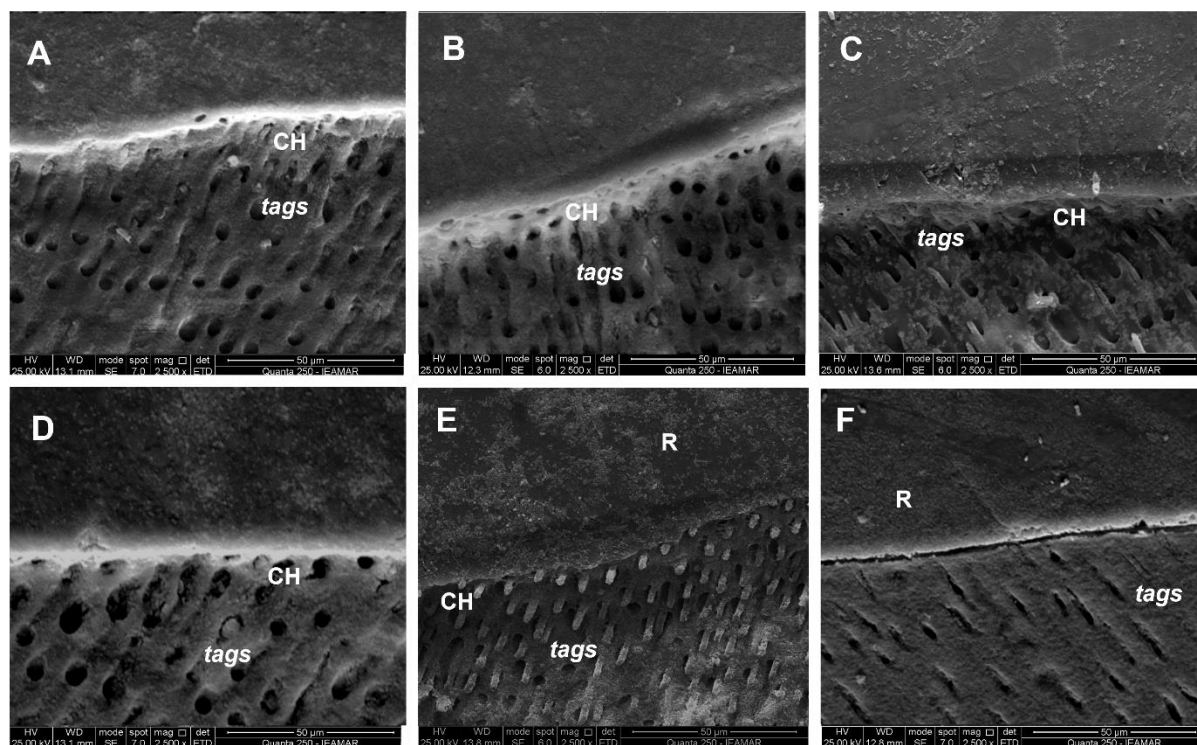


Legenda: a) grupo controle positivo; b) grupo controle negativo; c) grupo laser 1; d) grupo laser 2; e) grupo clareado e laser 1; f) grupo clareado e laser 2; (setas amarelas): indicam as áreas de rachadura.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Pode-se observar nas imagens 17 e 18 que o grupo controle positivo (CP) apresenta superfície com a presença de esfregaço e obstrução dos túbulos dentinários, enquanto o grupo controle negativo (CN) apresenta uma superfície irregular com a presença de fibras colágenas expostas. As imagens para os grupos que receberam o tratamento com laser (L1 e L2) e o tratamento clareador + laser (CL1 e CL2) mostram uma estrutura com superfície irregular, escamosa e com o orifício dos túbulos dentinários claramente expostos. Para o grupo CL2 foi observada ainda áreas de rachadura na superfície dentinária.

Figura 19 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da interface adesiva em 2500x



Legenda: a) grupo controle positivo; b) grupo controle negativo; c) grupo laser 1; d) grupo laser 2; e) grupo clareado e laser 1; f) grupo clareado e laser 2; (CH): camada híbrida; (Tags): tags de resina nos túbulos dentinários;

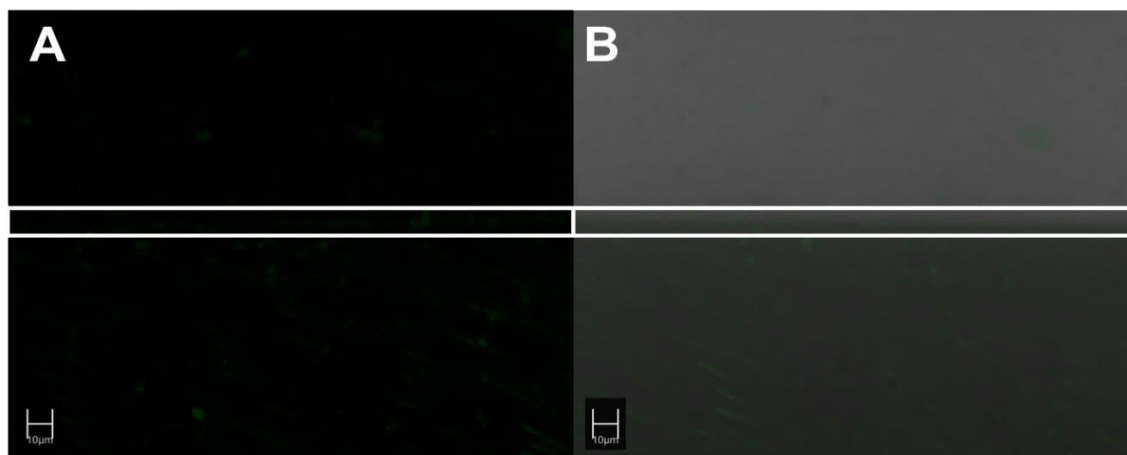
Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 19 exibe as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para a análise da interface adesiva. As imagens dos grupos de laser mostram a presença de camada híbrida e tags de resina na parte inferior da camada adesiva. Em contraste com o grupo controle positivo (CP), as camadas híbridas nos grupos tratados com laser a 25 J/cm^2 (L1 e CL1) foram mais espessas, apresentando tags de resina longas, apesar do aspecto irregular. A imagem do grupo CL2 mostra a presença de fenda na interface adesiva, enquanto para o grupo L2 a imagem mostra uma camada híbrida fina com tags de resina curtos, dados que podem estar associados à queda nos valores de resistência de união para esses grupos.

5.4 Atividade das Metaloproteinases de Matriz (Zimografia *in situ*)

Para análise da zimografia *in situ*, uma área na base da camada híbrida foi escolhida. Foi realizada uma marcação em todos os espécimes (marcação em branco) e o teste foi realizado em triplicata. A atividade gelatinolítica das metaloproteinases de matriz foi medida através da contagem de pixels, onde os pixels verdes representam as metaloproteinases coradas após a hidrólise da gelatina conjugada com fluoresceína presente na interface. As imagens obtidas e registradas com microscopia confocal de varredura a laser (MCVL) (aumento de 63x) em imersão à óleo estão dispostas nas Figuras 20 a 25.

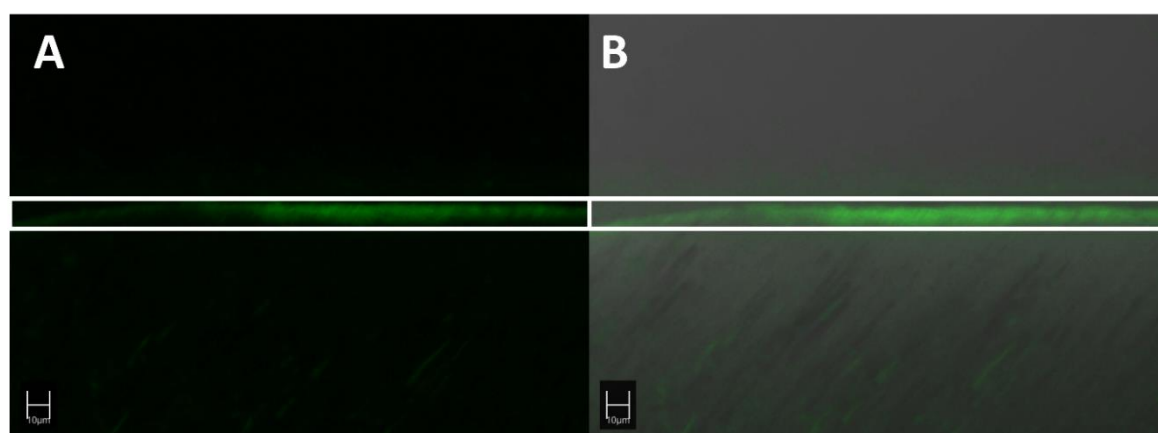
Figura 20 – Atividade das metaloproteinases de matriz do grupo CP



Legenda: a) atividade gelatinolítica; b) zimografia *in situ*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

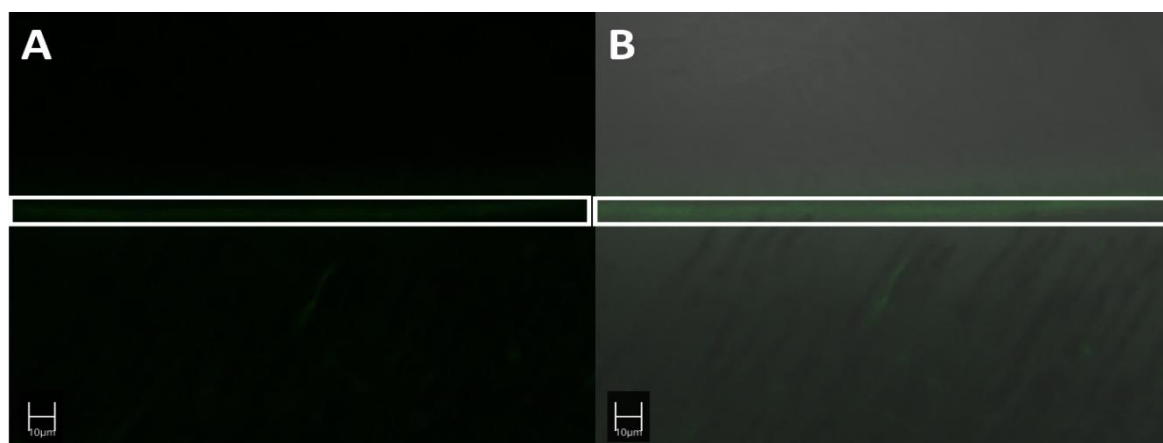
Figura 21 – Atividade das metaloproteinases de matriz do grupo CN



Legenda: a) atividade gelatinolítica; b) zimografia *in situ*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

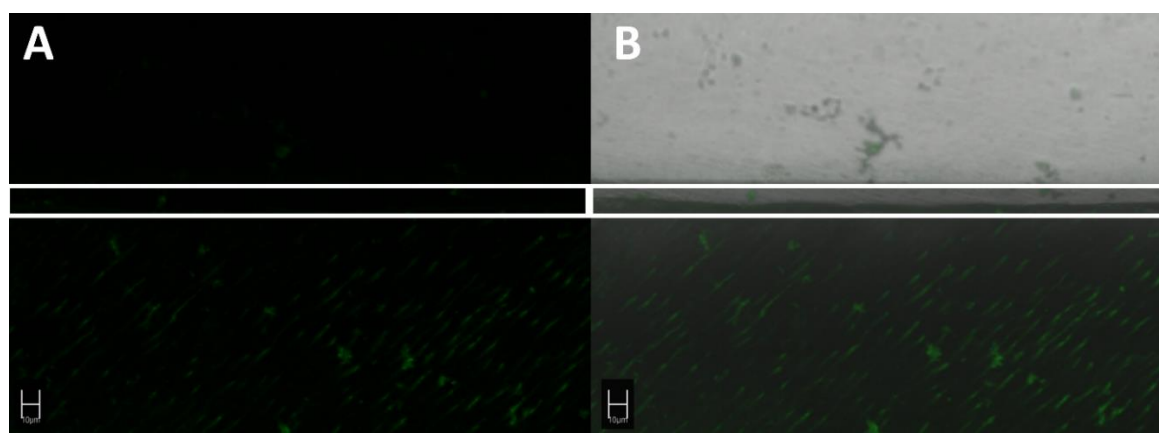
Figura 22 – Atividade das metaloproteinases de matriz do grupo L1



Legenda: a) atividade gelatinolítica; b) zimografia *in situ*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

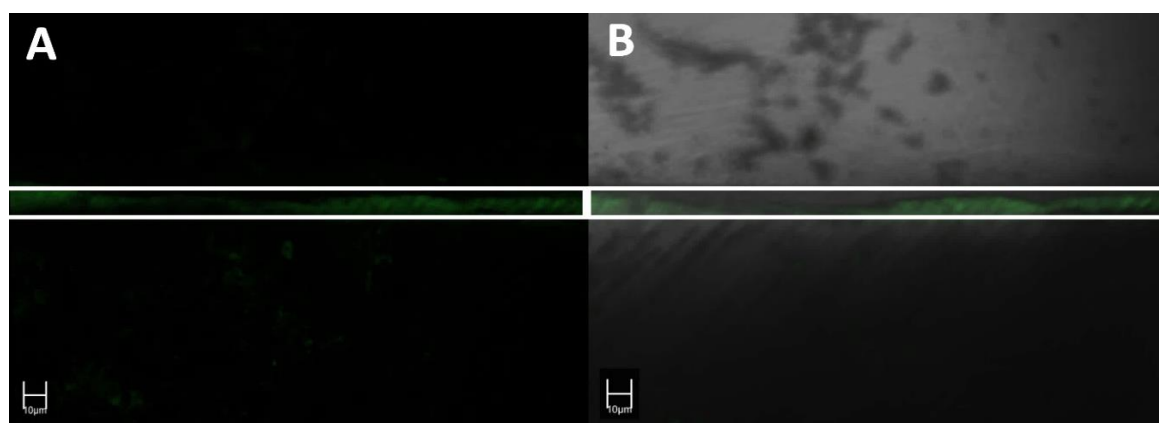
Figura 23 – Atividade das metaloproteinases de matriz do grupo L2



Legenda: a) atividade gelatinolítica; b) zimografia *in situ*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

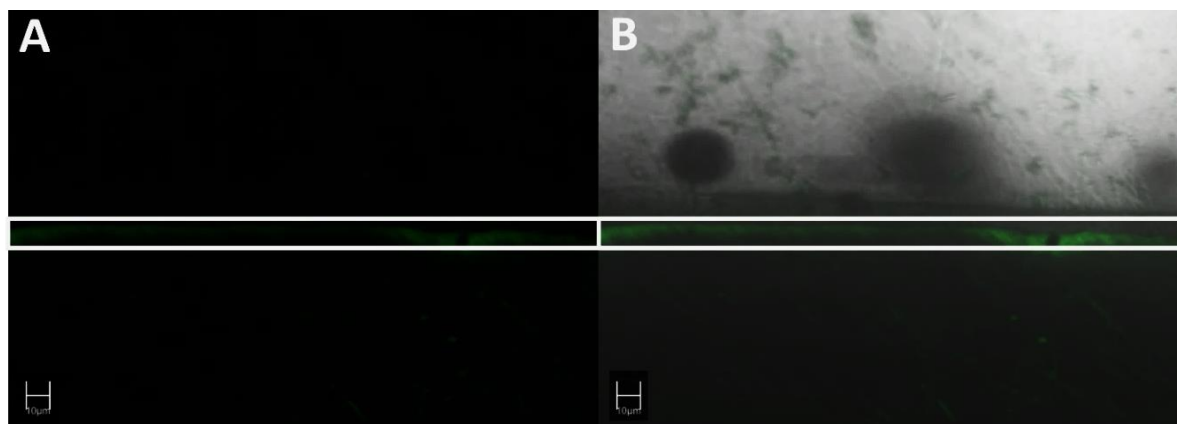
Figura 24– Atividade das metaloproteinases de matriz do grupo CL1



Legenda: a) atividade gelatinolítica; b) zimografia *in situ*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 25 – Atividade das metaloproteinases de matriz do grupo CL2



Legenda: a) atividade gelatinolítica; b) zimografia *in situ*.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados obtidos através de análise no software ImageJ (Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland) demonstram que apesar da simulação da pressão pulpar de 15 cm de H₂O, o grupo CP (sem nenhum tratamento) apresenta a menor atividade gelatinolítica de MMPs, indicando que o laser não inibe completamente a atividade das metaloproteinases de matriz, se comparado a nenhum tratamento. O tratamento clareador foi o que mais ativou a atividade das MMPs, entretanto, para os grupos de clareamento associados ao laser, observa-se uma diminuição da fluorescência na camada híbrida, indicando menor atividade gelatinolítica das enzimas para esses grupos, se comparados ao resultado do grupo apenas clareado. Os dados da contagem de pixels foram analisados quanto a sua normalidade e submetidos à análise de variância (ANOVA) e post-hoc de Tukey (5%) e estão dispostos nas tabelas a seguir.

Tabela 4 – Dados da análise de variância ANOVA a um fator para a atividade gelatinolítica das MMPs

	F	gl1	gl2	p
Grupos	3569	5	5.44	< .001

Legenda: (F): razão; (gl1): grau de liberdade 1; (gl2): grau de liberdade 2; (p) valor de $p < 0,001$.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Tabela 5 observam-se os resultados do teste de Tukey ($p < 0,05$) demonstrando que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

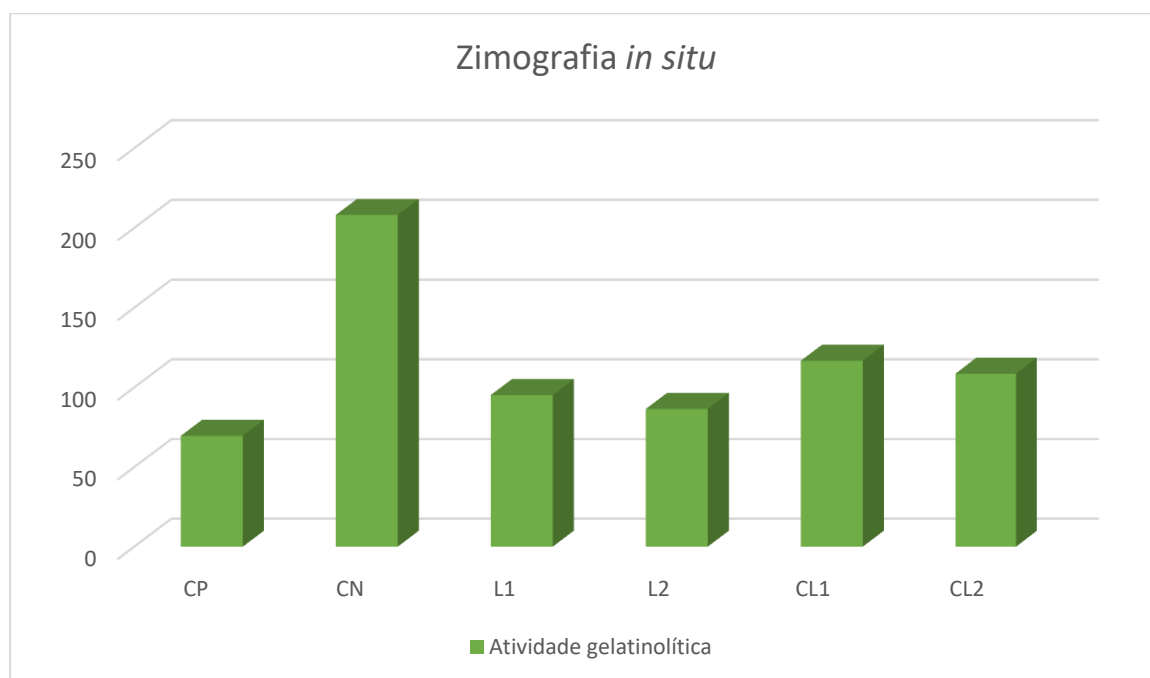
Tabela 5 – Test post-hoc de Tukey

Grupos	Médias (pixels) $\pm$ Dp
CP	69.6 ± 0.876^A
L2	86.5 ± 2.159^B
L1	95.2 ± 2.621^C
CL2	108.6 ± 4.138^D
CL1	116.7 ± 4.138^E
CN	208.1 ± 1.208^F

Legenda: análise estatística dos resultados obtidos a partir da análise das imagens no programa ImageJ, onde foi calculada a atividade gelatinolítica dos espécimes na zimografia *in situ*.
Fonte: Elaborado pelo autor.

O Gráfico 3 ilustra os resultados para a atividade gelatinolíticas das metaloproteinases de matriz nos diferentes grupos.

Gráfico 3 – Atividade gelatinolítica das MMPs (Zimografia *in situ*)

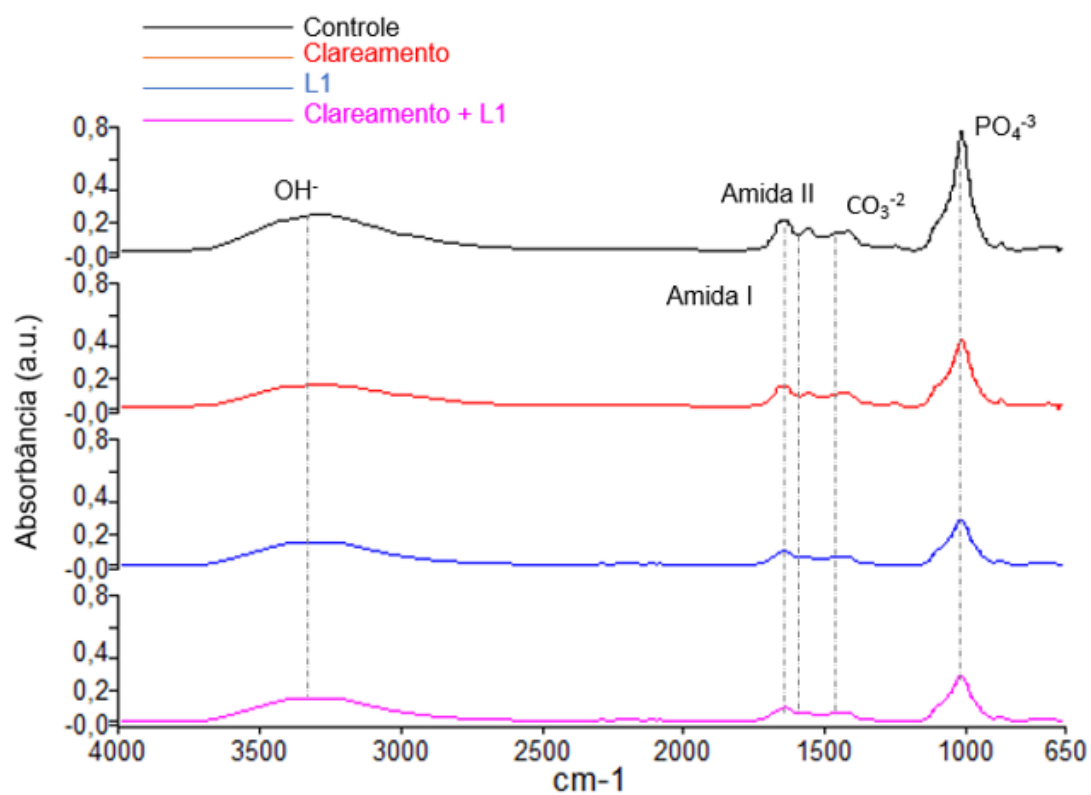


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

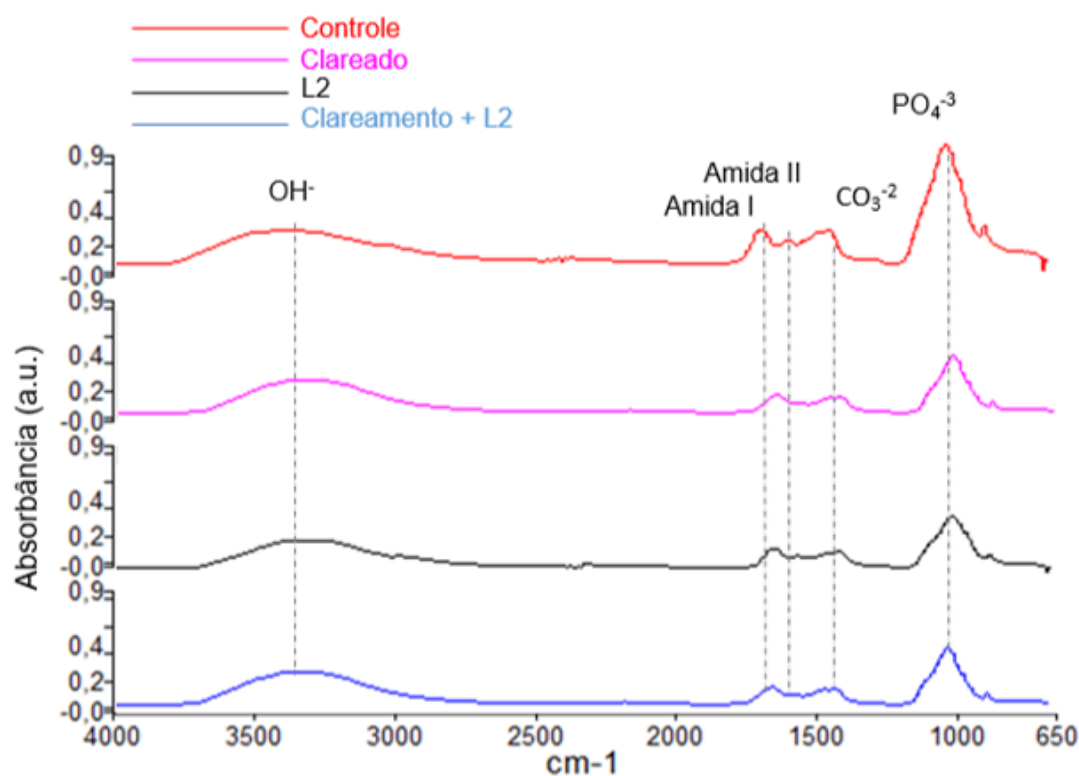
Os resultados dos dados qualitativos estão dispostos em gráficos. Gráficos dos picos de absorbância referentes aos diferentes tratamentos (Controle, Clareamento, Laser e Clareamento + Laser) sobre a superfície da dentina estão representados nas Figuras 26 e 27.

Figura 26 – Gráfico dos picos de Absorbância do CP, CN, L1 e CL1



Legenda: (PO_4^{3-}): grupo fosfato; (CO_3^{2-}): grupo carbonato; (OH^-): grupo hidroxila.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 27 – Gráfico dos picos Absorbância do CP, CN, L2 e CL2



Legenda: (PO_4^{3-}): grupo fosfato; (CO_3^{2-}): grupo carbonato; (OH^-): grupo hidroxila.
 Fonte: Elaborado pelo autor.

As bandas de absorção representam o grupamento fosfato (entre 1000 e 1100 cm^{-1}), grupo carbonato (1400 cm^{-1}), grupo amida I e II (entre 1550 e 1700 cm^{-1}) e o grupo hidroxila (3400 cm^{-1}). Os espectros de FTIR obtidos neste estudo revelam uma redução nas intensidades dos picos das bandas amida, carbonato e fosfato da dentina e na largura da banda de hidroxila após os tratamentos (clareamento, laser e associação do clareamento + laser). No entanto, não foram observadas alterações significativas nas posições das bandas e não surgiram novas formas de pico.

6 DISCUSSÃO

Para facilitar o entendimento, a discussão foi dividida em dois tópicos: **Discussão da Metodologia**, onde foram discutidas as escolhas dos métodos utilizados para realização da pesquisa e **Discussão dos Resultados**, que abordou os resultados encontrados na pesquisa, discutindo suas relevâncias e correlacionando-os com trabalhos existentes na literatura.

6.1 Discussão da Metodologia

No presente estudo dentes bovinos extraídos, limpos e com a raiz removida foram utilizados, uma vez que esse substrato é um substituto razoável ao dente humano para o teste de microtração em estudos laboratoriais *in vitro* (Soares et al., 2016). Dentes bovinos têm sido utilizados como substrato alternativo na adesão, principalmente devido à facilidade de obtenção do número amostral e à possibilidade de padronizar a idade dentária, dieta e outras condições ambientais, reduzindo o viés de discrepância de substrato (Zanchi et al., 2010; Pucci et al., 2013; Silva Soares e do Espírito Santo, 2014; Galhano et al., 2009).

Os dentes bovinos foram armazenados em solução aquosa de Timol (2-isopropil-5-metil-fenol) a 0,1 % que foi trocada uma vez por semana, até o momento da utilização, não excedendo o período de 6 meses (ISO 11405). Neste estudo optou-se pelo resfriamento das amostras em freezer, como método eficiente e seguro de armazenamento para dentes que serão submetidos a testes de resistência de união (Tonami et al., 1996; Titley et al., 1998).

As revisões de literatura realizadas por De Munck et al. (2005) e Breschi et al. (2008), mostraram que os sistemas adesivos possuem uma boa resistência de união imediata. Foi utilizado no presente estudo, o adesivo autocondicionante Single Bond Universal (3M ESPE), por ser um produto com propriedades bem conhecidas, amplamente utilizado clinicamente e por ser um adesivo de escolha em diversos estudos (Saitamon et al., 2024; Cardoso et al., 2019; Dutra et al. 2022).

Nesse estudo, foi utilizado um método que simula a pressão pulpar dentinária de 15 cm de H₂O que se assemelha à condição encontrada *in vivo*, uma vez que a pressão pulpar simulada exerce influência durante o processo de adesão, especialmente nos testes de resistência de união de materiais adesivos (Perdigão, 2010; Cardoso et al., 2008).

O teste de microtração foi o escolhido por ser o teste mais empregado nos estudos para avaliar resistência de união, segundo a revisão de literatura conduzida por Munck et al. (2005). Além desse fato, essa é uma metodologia de avaliação da resistência de união bem delineada e confiável (Armstrong et al., 2016; Campos et al., 2018; Rechmann et al., 2017). Para realizar o teste foram utilizados espécimes em forma de palito com uma área de aproximadamente 1mm², uma vez que essas dimensões do palito permitem a obtenção de um maior número de amostras, uma maior resistência mecânica e diminuição de falhas (Armstrong et al., 2016; Pashley et al., 1999; Sano et al., 1994).

No presente estudo, as análises do conteúdo orgânico e inorgânico da dentina antes e após os tratamentos com clareamento e laser foram feitas no FTIR de reflexão total atenuada (ATR) no modo de absorbância. Esse dispositivo possui um cristal, onde o espécime é posicionado e lido por 32 varreduras. Essa metodologia utilizada no presente estudo é frequentemente observada em trabalhos anteriores (Rodrigues et al., 2018; Enrich-Essvein et al., 2021).

A zimografia *in situ* foi utilizada nesse trabalho para permitir a localização das metaloproteinases de matriz (MMPs) ativas. Os resultados obtidos foram analisados a partir da delimitação de um espaço de até 5 µm na base da camada híbrida, levando em consideração que esta é a área com a provável maior ação das enzimas, devido a possibilidade de haver fibras colágenas expostas, que podem não ter sido envolvidas pelos monômeros presentes no adesivo. Essa técnica é a mais utilizada para rastrear a atividade gelatinolítica das MMPs (George, Johnson, 2010).

Os parâmetros de densidade de energia do laser Er:YAG foram escolhidos levando em consideração a configuração para tratamento em dentina pré-estabelecida pelo fabricante (LiteTouch, Light Instruments, Synaron, Israel) associado a análise dos resultados observados em estudos anteriores (Comba et al. 2019; Wang et al., 2020; Vermelho et al., 2022; Otero et al., 2021).

6.2 Discussão dos Resultados

O clareamento dental com gel a base de peróxido de hidrogênio é comumente empregado na correção de alterações cromáticas em dentes anteriores na prática clínica (Chng et. al, 2004; Schemehorn, Novak, 2007). Após o tratamento clareador estético a substituição de restaurações pode ser indicada devido à diferença de coloração entre o material restaurador e o substrato clareado (Torres et al., 2012). A diferença na percepção de cor entre o material restaurador e o substrato clareado acontece em detrimento da ação do peróxido de hidrogênio na quebra de partículas de pigmentos extrínsecos do substrato dental em partículas menores, dando ao dente um aspecto mais claro, mas não afetando significativamente as propriedades ópticas do material restaurador (Villaltla et al. 2006).

As resinas compostas são os materiais mais utilizados em restaurações diretas, entretanto reestabelecer a forma, função e estética dos dentes com materiais restauradores imediatamente após o procedimento clareador tem sido um grande desafio na Odontologia, principalmente quando o preparo envolve o substrato dentinário (Huang et al., 2018; Torres et al., 2012). Devido à reação de oxirredução do peróxido (H_2O_2), resíduos de oxigênio (O_2) que permanecem dentro dos túbulos dentinários após o clareamento podem causar uma diminuição na resistência de união por interferir na infiltração do sistema adesivo e por impedir a polimerização completa da resina composta (Dabas et al., 2011; Jiang et al., 2020a; Khoroushi e Saneie, 2012). Dessa forma, preconiza-se que o período de 1 a 2 semanas seja aguardado para a troca de restaurações em dentes que foram clareados (Karadas and Demirbuga, 2019; Souza-Gabriel et al., 2011).

Vale ressaltar que, diante do elevado nível de importância do sorriso para a inserção social e bem-estar dos pacientes, a realização de restaurações após dias de espera pode trazer um impacto negativo na percepção estética do sorriso pelo paciente e pela comunidade a sua volta, uma vez que a diferença de cor entre o dente e a restauração pode ser perceptível e incômoda. Os resultados deste estudo indicam que a irradiação da dentina com o laser de Er:YAG numa densidade de energia de $25 J/cm^2$ após o procedimento clareador promoveu efeitos satisfatórios

de normalização da resistência de união. Clinicamente, profissionais e pacientes podem se beneficiar da utilização do laser de Er:YAG após o procedimento clareador, uma vez que o procedimento restaurador de forma imediata se tornaria mais seguro, sem comprometer a longevidade das restaurações e a estética dos dentes anteriores. Contudo, análises *in situ* e clínicas são necessárias para validar tais dados.

No trabalho conduzido por Torres et al. (2012) os autores concluíram que a utilização dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG aumentaram os valores de resistência de união imediatas após o clareamento dental, avaliados pelo teste de microtração, quando comparados aos grupos que não receberam os tratamentos adicionais pós-clareamento. O teste de microtração é a técnica predominantemente utilizada para avaliar a adesão no substrato dentinário (Sano et al., 2020). Essa técnica tem como benefício a obtenção de um alto número de espécimes pequenos a partir de um único dente isolado, o que evita que defeitos localizados na superfície da dentina comprometam o resultado de todos os espécimes.

Cavalli et al. (2018) avaliaram a resistência de união e nanoinfiltração de restaurações na dentina em dentes submetidos ao clareamento e obtiveram resultados que mostram que restaurações confeccionadas após um período de espera de duas semanas do tratamento clareador apresentaram valores de resistência de união estatisticamente semelhantes ao grupo controle, restaurado sem tratamento clareador prévio. Ainda, para os grupos que foram restaurados imediatamente após o clareamento, os valores de resistência de união foram significativamente menores, corroborando com os resultados encontrados nesse estudo, em que o grupo clareado e restaurado imediatamente (CN) foi o que apresentou menores valores de resistência de união em MPa dentre todos os grupos. Esses resultados corroboram ainda, com os encontrados no estudo conduzido por Torres et al. (2012) em que os grupos clareados obtiveram resistência de união em esmalte significativamente menores do que os grupos tratados com laser. Sendo assim, a primeira hipótese nula (H_{01}) de que o tratamento com laser não anula os efeitos deletérios do clareamento na resistência de união é rejeitada. A análise do padrão de fratura por esteromicroscópio revelou que todos os grupos apresentaram o maior número de falhas adesivas, o que é consistente com os achados do estudo de Souza-Zaroni et al. (2008).

As imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostraram que a superfície dentinária tratada com as diferentes densidades de energia do laser apresentou um aspecto irregular, com remoção da *smear layer* e com abertura do calibre dos túbulos dentinários. A superfície rugosa da dentina tratada com laser está associada ao mecanismo de ablação, que são “microexplosões” da superfície (Wigdor et al., 2005). A criação de um padrão micromecânico pode melhorar a área de adesão da dentina, facilitando a ligação micromecânica entre o material restaurador e o substrato dentinário (Okda et al., 2020). As imagens de MEV do grupo tratado com 25 J/cm² do laser não demonstraram alterações visíveis da superfície dentinária, enquanto as imagens do grupo tratado com 37,5 J/cm² do laser mostraram rachaduras na superfície semelhante a trincas. A ablação seletiva é mais pronunciada na dentina peritubular do que na dentina intertubular, devido ao seu maior teor de matéria orgânica e água (Van Meerbeek et al., 2003; Chen et al., 2015). Além disso, a pressão pulpar induz a exposição dos túbulos dentinários, o que é favorável para o desenvolvimento de *tags* de resina.

A análise por MEV da interface adesiva revelou que o grupo controle exibiu um número limitado de *tags* de resina, enquanto os grupos tratados com laser exibiram maior quantidade e espessura de *tags*. Além disso, no grupo L1, ramos transversais foram visíveis nas *tags* de resina, mostrando que as *tags* interagiram com as fibras colágenas no túbulo dentinário. Esse achado está alinhado com os resultados encontrados por Ramos et al. (2010). Após o aumento na densidade de energia depositada do laser para 37,5 J/cm², os valores de resistência de união diminuíram, se comparado ao controle, e este declínio pode ser atribuído à formação de uma camada híbrida mais frágil nesse parâmetro de laser específico, além da presença de fenda na interface adesiva observada para o grupo CL2. Em um estudo anterior, Wang et al. (2020) observaram que níveis altos de energia e frequência do laser colapsavam os túbulos dentinários e desencadeavam a carbonização entre eles. A partir dos resultados desse estudo sobre a morfologia da superfície e da interface adesiva da dentina irradiada com laser, é possível afirmar que 25 J/cm² do laser foi capaz de normalizar os valores de resistência de união em dentes restaurados imediatamente após o clareamento sob pressão pulpar simulada. Esta melhoria foi atribuída à criação de um padrão morfológico retentivo na superfície

dentinária e à exposição da luz dos túbulos, que levou ao aumento da área de adesão.

Entretanto, existe na literatura científica opiniões divergentes em relação ao efeito do laser na resistência de união ao substrato dentinário. Wei et al. (2023) concluíram que a concentração de tensões em uma superfície irregular gerada pela ablação com laser resulta em uma camada híbrida não homogênea, com resistência de união fraca. No estudo conduzido por Comba et al. (2019) os autores alcançaram valores satisfatórios de resistência de união com os parâmetros de 250 mJ de energia e 30 Hz de frequência associado a um adesivo autocondicionante, porém os autores concluíram que o aumento da resistência de união utilizando o laser Er:YAG com esses parâmetros está sujeito ao protocolo adesivo utilizado e ao tempo de envelhecimento. Os resultados encontrados pelos autores corroboram com os achados obtidos nesse estudo quando o tratamento com essa densidade de energia do laser é associada ao tratamento clareador, uma vez que o grupo CL2 utilizando o parâmetro de 250 mJ de energia associado a uma frequência de 30 Hz (7,5W) teve valores de resistência de união adesiva maiores que o grupo controle negativo, apenas clareado.

A interface de união dos materiais adesivos à dentina é reconhecidamente um desafio clínico, devido à alta concentração de água e conteúdo orgânico desse substrato, pela presença de túbulos que incluem processos odontoblásticos e por esse substrato apresentar alterações patológicas e fisiológicas em sua microestrutura, como dentina esclerótica e hipermineralizada (Chng et al. 2005; Tjäderhane et al. 2013). A umidade dentinária proveniente dos fluidos da polpa que são expulsos pelos túbulos dentinários por pressão pulpar, interferem diretamente na interface adesiva e influenciam na durabilidade de restaurações adesivas. Nesse estudo, foi utilizado um método *in vitro* que simula a pressão pulpar dentinária de 15 cm de H₂O, baseado nos achados da revisão conduzida por Perdigão (2010), que mostrou que a pressão pulpar simulada é um fator que exerce influência durante o processo de adesão, especialmente nos testes de resistência de união de materiais adesivos *in vitro*. A quantidade de água na dentina influencia na integridade da interface de união adesiva, podendo levar à hidrólise dessa estrutura (Feitosa et al., 2014). Com a simulação da pressão pulpar, um filme permeável é formado na superfície da dentina pelas propriedades hidrofílicas desse substrato e a presença

de monômeros hidrofílicos no agente adesivo. Este filme permite a passagem de água pela interface que com o tempo gera hidrólise da resina do espaço intersticial fibroso e a deterioração das fibras de colágeno expostas (Frassetto et al., 2016).

O clareamento dental também é um fator que exerce influência na degradação da interface adesiva por ativar a ação das metaloproteínases da matriz (MMPs) que degradam o colágeno presente na dentina (Sato et al., 2013). A degradação do colágeno afeta gravemente a integridade mecânica e morfológica da camada híbrida, causando assim, uma redução na resistência de união à dentina (Breschi et al., 2018; Tjäderhane et al., 2013). A contagem de pixels do teste de zimografia *in situ* mostrou que o grupo clareado (CN) apresentou a maior atividade gelatinolítica na camada híbrida dentre todos os grupos, demonstrando a ativação das MMPs pelo tratamento clareador. Os grupos que receberam o tratamento clareador associado ao laser (CL1 e CL2) apresentaram atividade gelatinolítica significativamente menor do que o grupo apenas clareado, demonstrando o potencial de inibição da atividade das MMPs pelas diferentes densidades de energia do laser. Tal ação pode ser explicada pelo processo de ablação causada pelo laser, que promove a evaporação da água e O_2 na superfície e expõe os túbulos dentinários, permitindo a formação de *tags* de resina, que posteriormente interagem com as fibras colágenas, aumentando assim a capacidade de selamento da interface dentina-resina (Yamakawa et al. 2018). Entretanto, apesar da simulação da pressão pulpar de água de 15 cm de H_2O o grupo controle positivo (CP) foi o que apresentou a menor atividade gelatinolítica dentre todos os grupos, e os grupos L1 e L2 ativaram a ação das MMPs. Ainda assim, esses achados levam à rejeição da H_0 desse estudo. A utilização do laser Er:YAG mostrou um possível potencial de beneficiar a longevidade das restaurações pela inibição da atividade enzimática das MMPs quando associado ao tratamento clareador.

Para a análise dos principais componentes da dentina, esse estudo utilizou o FTIR, que é uma técnica que permite a análise dos componentes orgânicos (amidas I e II) e inorgânicos (carbonato e fosfato) do substrato. Em geral, picos mais nítidos do espectro infravermelho sugerem um nível mais elevado de mineralização da dentina, enquanto picos mais baixos de amida I e II indicam uma redução nos componentes orgânicos. No que diz respeito à matriz orgânica, os espectros de FTIR resultantes desse estudo revelaram uma leve redução nas intensidades dos

picos das bandas amida I e II da dentina após a irradiação com as diferentes densidades de energia do laser, clareamento e da associação dos dois tratamentos. No entanto, não foram observadas alterações significativas nas posições das bandas e não surgiram novas formas de pico associadas a compostos contendo nitrogênio, que são gerados devido à carbonização do colágeno causado por altas temperaturas, provavelmente devido à irradiação da superfície pelo laser ter sido feita sob refrigeração com spray de água e ar, corroborando com os resultados obtidos por Zezell et al. (2015) e Aljdaimi et al. (2018).

Para a matéria inorgânica, uma alteração na largura da banda corresponde a uma modificação na cristalinidade do componente inorgânico da dentina. A ausência de alteração substancial nos componentes inorgânicos pode ser potencialmente atribuída à simulação da pressão pulpar de 15 cm H₂O e do teor de água da dentina, que evapora à 100 °C. A maior parte da energia emitida pela irradiação do laser na dentina pode ter sido preferencialmente absorvida pela água ao invés da hidroxiapatita (Sasaki et al. 2002). Ainda assim, foi observada uma diminuição nas bandas referentes aos grupos carbonato e fosfato, sendo a diminuição da banda de fosfato após os tratamentos a mais evidente, indicando uma possível desmineralização da dentina. Para a banda de hidroxila, foi observada uma leve redução na largura do espectro dos grupos tratados com laser, indicando uma possível vaporização da água pelo laser, ou decomposição do HPO_4^{-2} , que pode contribuir para a diminuição da banda de OH^- , como observado no estudo de Lee et al. (2004). A partir das descobertas desse estudo, o uso do laser Er:YAG associado ao resfriamento por água e ar comprimido, resultou na alteração do conteúdo orgânico e inorgânico presente na superfície da dentina por evaporação das substâncias, porém, o efeito térmico induzido pelo laser não causou desnaturação do colágeno.

Diante do exposto, mais investigações são necessárias para validar a eficácia do laser na normalização da resistência de união sobre os efeitos deletérios do clareamento. Contudo, esse estudo fornece evidências significativas sobre a ação do laser no comportamento da dentina, replicando condições *in vivo* em um contexto *in vitro*. Ainda assim, são necessárias investigações clínicas adicionais para validar se resultados semelhantes podem ser alcançados *in vivo*, estabelecendo viabilidade terapêutica.

7 CONCLUSÃO

Diante da metodologia proposta e das limitações de um estudo *in vitro* pode-se concluir que:

- O tratamento com laser na densidade de energia de $25\text{J}/\text{cm}^2$ foi capaz de anular os efeitos deletérios causados pelo clareamento e normalizar os valores de resistência de união imediatos em dentes previamente clareados;
- O laser foi capaz de diminuir a atividade das metaloproteinases de matriz em dentes previamente clareados;
- O laser alterou a composição orgânica e inorgânica da dentina.

REFERÊNCIAS

- Abdulsamee N. All Tissues Dental Laser Er:YAG laser- Review Article. *Biomed J Sci Tech Res*. 2017 May 23;1(1). doi: 10.26717/BJSTR.2017.01.000104.
- Aljdaimi,A., Devlin,H., Dickinson,M., Alfutimie, A.. Effect of 2.94 μm Er: YAG laser on the chemical composition of hard tissues. *Microsc Res Tech*. 2018, May; 81(8):887-896. doi.org/10.1002/jemt.23051.
- Alkhudhairy F, AlKheraif A, Bin-Shuwaish M, Al-Johany S, Naseem M, Vohra F. Effect of Er,Cr:YSGG Laser and Ascorbic Acid on the Bond Strength and Microleakage of Bleached Enamel Surface. *Photomed Laser Surg*. 2018 Aug;36(8):431–438. doi:10.1089/pho.2018.4437.
- Amaral C, Jorge A, Veloso K, Rodrigues J, Erhardt M, Arias V. The Effect of In-office in Combination with Intracoronary Bleaching on Enamel and Dentin Bond Strength and Dentin Morphology. *J Contemp Dent Pract* 2008 July; (9)5:017-024.
- Armengol V, Jean A, Marion D. Temperature rise during Er:YAG and Nd:YAP laser ablation of dentin. *J Endod*. 2000 Mar;26(3):138-41. doi: 10.1097/00004770-200003000-00002. PMID: 11199705.
- Armstrong S, Breschi L, Özcan M, Pfeifferkorn F, Ferrari M, Meerbeek B Van. Academy of dental materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin / enamel using micro-tensile bond strength (TBS) approach. *Dent Mater*. 2016;33(2):133–43. doi: 10.1016/j.dental.2016.11.015.
- Bachmann L, Diebolder R, Hibst R, Zetzl DM. Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. *Spectrochimica Acta Part A: Mol Bio Spect*. 2005 Nov;61(11-12):2634–2639. doi:10.1016/j.saa.2004.09.026
- Braga SSL. Efeito da microcirculação pulpar simulada e fontes fotoativadoras na geração de calor na câmara pulpar durante restaurações bulk fill [Internet] [Dissertation]. [Universidade Federal de Uberlândia]; 2017 Fev. doi.org/10.14393/ufu.di.2017.155
- Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*. 2008;24(1):90–101. doi: 10.1016/j.dental.2007.02.009. PMID: 17442386
- Breschi, L, Maravic, T, Cunha, S R, Comba, A, Cadenaro, M, Tjäderhane, L, Mazzoni, A. Dentin bonding systems: from dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater*. 2018, Jan;34(1):78-96. doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.005

Brulat, N, Fornaini, C, Rocca, JP, Darque-Ceretti, E. Role of surface tension and roughness on the wettability of Er: YAG laserirradiated dentin: In vitro study. *Laser Ther.* 2013;22(3):187-194. doi.org/10.5978/islsm.13-OR-15

Buonocore MG. A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *J. Dent. Res.* 1955 Dec;34(6):849–853. doi:10.1177/00220345550340060801

Campos RE, Santos Filho PCF, Júnior OB, Ambrosano GMB, Pereira CA. Comparative evaluation of 3 microbond strength tests using 4 adhesive systems: Mechanical, finite element, and failure analysis. *J Prosthet Dent.* 2018;119(1):16674. doi: 10.1016/j.prosdent.2017.02.024

Campos, RP, Mailart, MC, Matuda, AGN., Yui, KCK, da Silva Chagas, G, Rocha, MB., Pucci, C. R. Effect of Nisin-based pretreatment solution on dentin bond strength, antibacterial property, and MMP activity of the adhesive interface. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2024; 106407 doi.org/10.1016/j.jmbbm.2024.106407

Cardoso DCG, Nakanishi L, Pereira Isolan C, Dos P, Jardim S, Ratto De Moraes R. Bond stability of universal adhesives applied to dentin using etch-andrinse or self-etch strategies. *Braz Dent J.* 2019;30(5):467–75. doi: 10.1590/01036440201902578

Cardoso MV, Moretto SG, Carvalho RC, Russo EM. Influence of intrapulpal pressure simulation on the bond strength of adhesive systems to dentin. *Braz Oral Res.* 2008 Apr-Jun;22(2):170-5. doi: 10.1590/S1806 83242008000200013. Pubmed PMID: 18622488

Carrasco-Guerisoli LD, Schiavoni RJ dos S, Barroso JM, Guerisoli DMZ, Pécora JD, Froner IC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin [Internet]. *Dent Traumatol.* 2009 ; 25(2): 176-180.[citado 2024 maio 28] Available from: doi.org/10.1111/j.1600-9657.2008.00644.x

Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjäderhane L, Mazzoni A, et al. Hostderived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;90(1):373–80. doi: 10.1002/jbmr.548.

Cavalli V, Reis AF, Giannini M, Ambrosano GM. The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite. *Oper Dent* 2001;26:597-602.

Cavalli V, Sebold M, Shinohara MS, Pereira PNR, & Giannini M. Dentin bond strength and nanoleakage of the adhesive interface after intracoronal bleaching. *Microsc Res Tech.* 2018 Jan;81(4):428-436. doi.org/10.1002/jemt.22995

Chen, CL, Parolia, A, Pau, A, Celerino de Moraes Porto, IC. Comparative evaluation of the effectiveness of desensitizing agents in dentine tubule occlusion using scanning electron microscopy. *Aust. Dent. J.* 2015, Feb;60(1): 65-72. doi.org/10.1111/adj.12275

Chng HK., Ramli HN, Yap AUJ, Lim CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. *J. Dent.* 2004 Sep;33(5): 363–369. doi:10.1016/j.jdent.2004.10.012

Chuang SF, Chen HP, Chng CH, Liu JK. Effect of fluoridated carbamide peroxide gels on enamel microtensile bond strength. *Eur J Oral Sci.* 2009 Jan;117:435–41.

Comba, A, Baldi, A, Tempesta, RM, Cedrone, A, Carpegna, G, Mazzoni, A, Scotti, N. Effect of Er: YAG and burs on coronal dentin bond strength stability. *J Adhes Dent.* 2019, 21(4), 329–335. doi.org/10.3290/j.jad.a42932

Curylofo, FA, Messias, DCF, Silva-Sousa, YTC, Souza-Gabriel, AE. Bond strength of restorative material to dentin submitted to bleaching and Er: YAG laser post-treatment. *Photomed Laser Surg.* 2014, Aug;32(9):495–499. doi.org/10.1089/pho.2014.3721

Da Silva Machado J, Cândido MS, Sundfeld RH, De Alexandre RS, Cardoso JD, Sundfeld ML. The influence of time interval between bleaching and enamel bonding. *J Esthet Restor Dent.* 2007 Nov;19:111–8

Dannacher JJ. Catalytic bleach: Most valuable applications for smart oxidation chemistry. *J Mol Catal A Chem.* 2006 Mar;251(1–2):159–76. doi:10.1016/j.molcata.2006.02.031

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, et al. A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results. *J. Dent. Res.* 2005;84(2):118–132. doi:10.1177/154405910508400204

Dishman MV, Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. *Dent. Mat.* 1994 Jan;10(1):33–36. doi:10.1016/0109-5641(94)90019-1

do Amaral C, Jorge A, Veloso K, Erhardt M, Arias V, Rodrigues JA. The effect of in-office in combination with intracoronal bleaching on enamel and dentin bond strength and dentin morphology. *J Contemp Dent Pract.* 2008;Jul 9(5):17–24

Dutra, DJ, Branco, NT, Alvim, HH, Magalhães, CS, Oliveira, RR, Moreira, AN. Bond strength of two universal adhesive systems to human dentin using different strategies. *Acta Odontol. Latinoam.* 2022; 35(3):155–163. doi.org/10.54589/aol.35/3/155

Enrich-Essvein, T, Benavides-Reyes, C, Álvarez-Lloret, P, Bolaños-Carmona, MV, Rodríguez-Navarro, AB, González-López, S. Influence of de-remineralization process on chemical, microstructural, and mechanical properties of human and bovine dentin. *Clin. Oral Investig.* 2021, May;(25): 841–849. doi.org/10.1007/s00784-020-03371-9

Feitosa VP, Gotti VB, Grohmann CV, Abuná G, Correr-Sobrinho L, Sinhoreti MAC, et al. Two methods to simulate intrapulpal pressure: effects upon bonding performance of self-etch adhesives. *International Endo J.* 2014 Jan 9;47(9):819–26

Fonseca RG., Martins SB, de Oliveira Abi-Rached F, dos Santos Cruz CA. Effect of different airborne-particle abrasion/bonding agent combinations on the bond strength of a resin cement to a base metal alloy. *J Pro Dent*. 2012 Nov;108(5):316-323. doi.org/10.1016/S0022-3913(12)60185-1

Frassetto, A, Breschi, L, Turco, G, Marchesi, G, Di Lenarda, R, Tay, FR, Cadenaro, M. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. *Dent Mat* 2016, Feb;32(2):e41-e53. doi.org/10.1016/j.dental.2015.11.007

Galhano, G, de Melo, RM, Valandro, LF, Bottino, MA. Comparison of resin push-out strength to root dentin of bovine-and human-teeth. *Indian J. Dent. Res*. 2009; 20(3): 332-336. doi: 10.4103/0970-9290.57378

George, SJ, & Johnson, JL. In situ zymography. Matrix metalloproteinase protocols. 2010;(62): 271-277. doi.org/10.1007/978-1-60327-299-5_17

Gonçalves SE, de Araujo MA, Damiao AJ. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching, and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1999 Sep;17(2):77–85

Groth EB, Mercer CE, Anderson P (2001) Microtomographic analysis of subsurface enamel and dentine following Er:YAG laser and acid etching. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 9(2): 73–79

Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of pulpal pressure on the microtensile bond strength of luting resin cements to human dentin. *Dent Mater*. 2009 Jan;25(1):58-66

Huang B, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Biodegradation of resin–dentin interfaces is dependent on the restorative material, mode of adhesion, esterase or MMP inhibition. *Dent Mat*. 2018; 34(9):1253-1262. ISSN 0109-5641. doi.org/10.1016/j.dental.2018.05.008

Jiang L, Lin XJ, Chen Yh. Effects of remaining dentin thickness on the bond strength of bleached dentin. *BMC Oral Health*. 2020 Feb;20: 218. doi.org/10.1186/s12903-020-01206-3

Lee BS, Lin CP, Hung YL, Lan WH. Structural changes of Er:YAG laser-irradiated human dentin. *Photomed Laser Surg*. 2004 Aug;22(4):330-4. doi: 10.1089/pho.2004.22.330. PMID: 15345177

Lima AF, Fonseca FM., Freitas MS, Palialol AR, Aguiar FH, Marchi GM. Effect of bleaching treatment and reduced application time of an antioxidant on bond strength to bleached enamel and subjacent dentin. *J Adhes Dent*. 2010 Nov ;13(6):537-42. doi: 10.3290/j.jad.a19813

Mitchem JC, Terkla LG, Gronas DG. Bonding of resin dentin adhesives under simulated physiological conditions. *Dent Mat.* 1988 Dec;4(6):351-353. doi.org/10.1016/S0109-5641(88)80048-4

Moll K, Park HJ, Haller B. Effect of simulated pulpal pressure on dentin bond strength of self-etching bonding systems. *Am J Dent.* 2005 Oct;18(5):335-9. Pubmed PMID:16335043

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Jour. of Biomed. Mat. Res.* 1982 16(3): 265–273. doi:10.1002/jbm.820160307

Nakabayashi N, Takarada K. (1992). Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater.* 1992 Aug;8(2):125–130. doi:10.1016/0109-5641(92)90067-m

Okda, RA, El Kadi, AS, AlAbbassy, FH. Effect of different dentin treatment protocols on surface roughness and composite bonding. *Alexandria Dental Journal.* 2020; 45(3), 120-125. doi: 10.21608/ADJALEXU.2020.122965

Otero CIA, Di Bella E, Krejci I, Bortolotto T. Effect of 9.3 μm CO₂ and 2.94 μm Er:YAG Laser vs. Bur Preparations on Marginal Adaptation in Enamel and Dentin of Mixed Class V Cavities Restored With Different Restorative Systems. *Front. Dent. Med.* 2021 May;(2). doi.org/10.3389/fdmed.2021.668056

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent.* 1999;1(4):299–309. PMID: 11725659

Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review. *J Esthet Restor Dent.* 2013, Feb; 25(4): 219-241. doi.org/10.1111/jerd.12016

Perdigão J. Dentin bonding-Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater.* 2010;26(2):24–37. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.149. PMID: 20005565

Potocnik I, Kosec L, Gasrpersic D. Effect of 10% Carbamide Peroxide Bleaching Gel on Enamel Microhardness, Microstructure, and Mineral Content. *J. Endod.* 2000 Apr;26(4):203–6

Pucci CR, Niu L, Bryan T, Qi Y, Pashley D, Tay F. Effect of a pulpal pressure on dentin-bonding of single-bottle, one-step self-etching adhesives [abstract] [online]. In: 90th IADR General Session & Exhibition of the International Association of Dental Research – IADR. 20-23 Jun 2013; Foz do Iguaçu, PR. *J Dent Res.* 2012;91(B):3052

Purk JH, Dusevich V, Atwood MJ, Spencer MDB, Kruse MD, Webb MT, et al. Microtensile dentin adhesive bond strength under different positive pulpal pressures. *Am J Dent.* 2009 Dec;22(6):357

Ramos, ACB, Esteves-Oliveira, M, Arana-Chavez, VE, de Paula Eduardo, C. Adhesives bonded to erbium: yttrium–aluminum–garnet laser-irradiated dentin:

transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and tensile bond strength analyses. *Lasers Med Sci.* 2010; 25: 181-189. doi:10.1007/s10103-008-0600-0

Rechmann, P, Bartolome, N, Kinsel, R, Vaderhobli, R, Rechmann, BMT. Bond strength of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems to enamel and dentin irradiated with a novel CO₂ 9.3 µm short-pulsed laser for dental restorative procedures. *Lasers Med Sci.* 2017;32, 1981-1993. doi:10.1007/s10103-017-2302-y

Ribeiro CF, Anido AA, Rauscher FC, Yui KC, Goncalves SE. Marginal leakage in class V cavities pretreated with different laser energy densities. *Photomed Laser Surg.* 2005 Sep; 23(3):313–316. doi:10.1089/pho.2005.23.313

Rodrigues, RB, Soares, CJ, Junior, PCS, Lara, VC, Arana-Chavez, VE, Novais, VR. Influence of radiotherapy on the dentin properties and bond strength. *Clin. Oral Investig.* 2018; 22, 875-883. doi:10.1007/s00784-017-2165-4

Saitamon, P, Pravalpruekskul, S, Vongphan, N, Harnirattisai, CC, Sattabanasuk, V. Universal Adhesive Application Modes Differentially Affect the Fracture Resistance of Resin Composite Restored Teeth. *Oper. Dent.* 2024; doi.org/10.2341/23-092-L

Sano H, Chowdhury AMA, Saikaew P, Matsumoto M, Hoshika S, Yamauti M: The microtensile bond strength test: Its historical background and application to bond testing. *Jpn. Dent. Sci. Rev.* 2020, 56(1):24-31

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength - evaluation of a microtensile bond test. *Dent Mater.* 1994;10(4):236–40. doi: 10.1016/01095641(94)90067-1. PMID: 7664990

Sasaki KM, Aoki A, Masuno H, Ichinose S, Yamada S, Ishikawa I: Compositional analysis of root cementum and dentin after Er : YAG laser irradiation compared with CO₂ lased and intact roots using Fourier transformed infrared spectroscopy. *J Periodontal Res* 2002, 37(1):50-59

Sato, A, Nagase, H, Obinata, D, Fujiwara, K, Fukuda, N, Soma, M, Takahashi, S. Inhibition of MMP-9 using a pyrrole-imidazole polyamide reduces cell invasion in renal cell carcinoma. *Int. J. Oncol.* 2013; 43(5):1441-1446. <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.2073>

Sauro, S, Pashley, DH, Montanari, M, Chersoni, S, Carvalho, RM, Toledano, M, Prati, C. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2007; 23(6): 705-713. doi.org/10.1016/j.dental.2006.06.010

Schemehorn BR, Novak ED. Use of a calcium peroxide whitening agent for remineralization and recalcification of incipient lesions. *J Clin Dent.* 2007 Aug;18(4):126–30. PMID: 18277744

Shakya VK, Bhattacharjee A, Singh RK. Shear bond strengths of bur or Er:YAG laser prepared dentine to composite resin with or without low-level laser conditioning: an in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2023 Jul;(38):161. doi.org/10.1007/s10103-023-03824-z

Silva Soares LE, do Espírito Santo AM. Morphological and Chemical Comparative Analysis of The Human and Bovine Dentine–Adhesive Layer. *Microsc. Microanal.* 2014 Dec; 21(01):204–213. doi:10.1017/s143192761401366x

Souza-Gabriel, AE, Sousa-Neto, MD, Scatolin, RS, Corona, SAM. Durability of resin on bleached dentin treated with antioxidant solutions or lasers. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2020, Apr;(104) 103647. doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103647

Souza-Zaroni, WC, Chinelatti, MA, Delfino, CS, Pecora, JD, Palma-Dibb, R., Corona, SA. Adhesion of a self-etching system to dental substrate prepared by Er: YAG laser or air abrasion. *J. Biomed. Mater. Res.* 2008; 86(2), 321-329. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31020>

Spyrides GM, Naressi SCM, Rodrigues JR, Araujo MAM. Vital tooth bleaching. *JBC J.Bras. Odont. Clin.* 1998 may-jun; 2(9): 15-20

Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T, et al. Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent.* 2011 Jun-Jul;39(10):686–92. doi: 10.1016/j.jdent.2011.07.011. PMID: 21855600

Swift EJ Jr. Critical appraisal: Effects of bleaching on tooth structure and restorations, part II: Enamel bonding. *J Esthet Restor Dent* 2008 Jan;20:68 73

Thiesen CH, Rodrigues Filho R, Prates LHM, Sartori N. The influence of desensitizing dentifrices on pain induced by in-office bleaching. *Braz Oral Res.* 2013 Nov-Dec;27(6):517–523. doi:10.1590/s1806-83242013000600012

Titely KC, Torneck CD, Ruse ND. The effect of carbamide peroxide gel on the shear bond strength of a microfil resin to bovine enamel. *J Dent Res.* 1992 Apr;71:20(4)

Titely KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of Composite Resin to Bleached and Unbleached Bovine Enamel. *J Dent. Res.* 1988;67(12):1523-1528. doi:10.1177/00220345880670121601

Titely, KC, Chernecky, R, Rossouw, P., Kulkarni, GV. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Arch. Oral Biol.* 1998; 43(4): 305-311. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(97\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(97)00112-X)

Tjäderhane, L, Nascimento, FD, Breschi, L, Mazzoni, A, Tersariol, IL, Geraldeli, S, Pashley, DH. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater.* 2013; 29(1): 116-135. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.08.004>

Tonami, KI, Takahashi, H, Nishimur, F. Effect of frozen storage and boiling on tensile strength of bovine dentin. *Dent. Mater. J.* 1996;15(2): 205-211.
<https://doi.org/10.4012/dmj.15.205>

Torres CRG, Caneppele TMF, Del Moral de Lazari R. Effect of dental surface treatment with Nd:YAG and Er:YAG lasers on bond strength of resin composite to recently bleached enamel. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul;(27):755–760.
<https://doi.org/10.1007/s10103-011-0946-6>

Unlu N, Cobankara FK, Ozer F. Effect of elapsed time following bleaching on the shear bond strength of composite resin to enamel. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008 Nov;(84):363 8

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

Vermelho, PM, Freitas, PM, Reis, AF, Giannini, M. Influence of Er: YAG laser irradiation settings on dentin-adhesive interfacial ultramorphology and dentin bond strength. *Microsc Res Tech.* 2022; 85(8): 2943-2952. doi.org/10.1002/jemt.24144

Villalta, P, Lu, H, Okte, Z, Garcia-Godoy, F, Powers, JM. Effects of staining and bleaching on color change of dental composite resins. *J. Prosthet. Dent.* 2006; 95(2), 137-142. doi.org/10.1016/j.prosdent.2005.11.019

Wang, JH, Yang, K, Zhang, BZ, Zhou, ZF, Wang, ZR, Ge, X., Wang, XJ. Effects of Er: YAG laser pre-treatment on dentin structure and bonding strength of primary teeth: an in vitro study. *BMC Oral health.* 2020;20, 1-10.
<https://doi.org/10.1186/s12903-020-01315-z>

Wei, D, Nakamoto, A, Hiraishi, N, Nakane, A, Abuna, G, Otsuki, M, Shimada, Y. Effect of Er: YAG laser irradiation with additional low energy on resin-dentin bonding and morphology of bonded interface. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2023;140, 105692. doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.105692

Wigdor, HA, Walsh Jr, JT, Featherstone, JD, Visuri, SR, Fried, D, Waldvogel, JL. Lasers in dentistry. *Lasers Surg. Med.* 2005;16(2): 103-133.
doi.org/10.1002/lsm.1900160202

Yamakawa S, Niwa T, Karakida T, Kobayashi K, Yamamoto R, Chiba R, Yamakoshi Y, Hosoya N. Effects of Er:YAG and Diode Laser Irradiation on Dental Pulp Cells and Tissues. *Int J Mol Sci.* 2018, Aug;(8):24-29. doi: 10.3390/ijms19082429. PMID: 30126087; PMCID: PMC6121961

Zanchi, CH, Guerra Lund, R, Perrone, LR, Ribeiro, GA, del Pino, FB, Pinto, MB, Demarco, FF. Microtensile bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems on sound and artificial caries-affected dentin. *Am. J. Dent.* 2010; 23(3): 152-6. PMID: 20718212

Zezell, DM, Ana, PA. High power lasers and their interaction with biological tissues. Lasers in Dentistry: Clin Pract, 2015; Feb;11-18.
<https://doi.org/10.1002/9781118987742.ch2>

Zhong Qi, Zhou Qi, Xiao T, Li X, Xu W, Li Y, Tao Y, Wu Z, Zhou Z, Wong HM, Li Li Q. Er:YAG Laser Physical Etching and Ultra-High-Molecular-Weight Cross-Linked Sodium Polyacrylate Chemical Etching for a Reliable Dentin Dry Bonding. ACS Appl. Mater. Interfaces., 2023;15;(33): 39127-39142. doi:10.1021/acsami.3c07091