



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

JEFFERSON PIRES DA SILVA JÚNIOR

**IMPACTO DA IRRADIAÇÃO COM LASER ND:YAG
SOBRE PRIMER DE ADESIVO CONVENCIONAL
NA ADESÃO À DENTINA**

2023

JEFFERSON PIRES DA SILVA JÚNIOR

**IMPACTO DA IRRADIAÇÃO COM LASER ND:YAG SOBRE PRIMER
DE ADESIVO CONVENCIONAL NA ADESÃO À DENTINA**

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: Desempenho de materiais e técnicas em odontologia restauradora.

Orientador: Prof. Tít. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. 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).

Silva Júnior, Jefferson Pires da
Impacto da irradiação com laser ND:YAG sobre primer de adesivo
convencional na adesão à dentina / Jefferson Pires da Silva Júnior. - São
José dos Campos : [s.n.], 2023.
80 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, 2023.
Orientador: Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves.

1. Hibridização dentinária. 2. Laser nd-yag. 3. Espectroscopia ftir. 4.
Tomografia computadorizada de feixe cônico. 5. Resistência ao cisalhamento.
I. Gonçalves, Sérgio Eduardo de Paiva, 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.

BANCA EXAMINADORA

Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Carolina Rocha Augusto

Universidade do Estado do Amazonas (UEA)

Escola Superior de Ciências da Saúde

Campus de Manaus

São José dos Campos, 22 de março de 2023.

DEDICATÓRIA

A Deus, por continuar protegendo minha vida, guiando-me pelos caminhos necessários, cheios de oportunidades e encontros que com toda certeza ficaram marcados. Além de dar forças e sabedoria durante os percalços manifestados nos momentos mais difíceis.

Ao meu estado, no qual tenho um imenso orgulho de dizer, sou “caboco” nascido e criado em Tefé no interior do Amazonas, fruto de escolas públicas, educado por pessoas humildes e de bem, filho de professores que sempre respeitaram suas origens e que assim como eu, carregam essa bandeira não importando a distância.

Aos professores que passaram pela minha trajetória desde o início da graduação, até minha pós-graduação, pois as pessoas não chegam em lugar nenhum sem reconhecer isso, e cada um deles teve sua parcela, colaborando no meu desenvolvimento clínico/científico, a esses profissionais eu também deixo o meu mais sincero obrigado.

A minha família, por ser o meu alicerce, a base de tudo. Todas as minhas conquistas e reconhecimentos são uma singela forma de retribuição pelo apoio, carinho, confiança e amor de vocês. Essa é a minha maior motivação e só é possível porque tenho vocês ao meu lado, eu dedico tudo isso a cada um com todo o meu esforço e amor.

AGRADECIMENTOS

Em meio ao turbilhão de eventos que é fazer parte de um dos melhores programas de pós-graduação que é o do **ICT/UNESP** de São José dos Campos, deixo claro meu agradecimento a pessoas importantes que fizeram e/ou fazem a diferença do momento que eu entrei no mestrado até mesmo após minha defesa. Agradeço ao **CASB** por proporcionar a oportunidade de aprender com professores diferenciados e desenvolver ainda mais meu conhecimento clínico/científico. Esse fator foi capaz de lapidar a ciência não só na minha área como também em outras áreas dentro e fora da odontologia.

Além disso, existem figuras de extrema importância que foram essenciais durante essa trajetória no mestrado como: **Emílio Carlos Sponchiado Júnior** que mudou meu jeito de pensar, encorajou minha ida à São José dos Campos, e conseguiu em pouco tempo marcar positivamente minha vida profissional; **André Luiz Carvalho Barreiros** que esteve presente durante todo o início do meu estudo, me encorajando, doando seu tempo sempre que necessário, disponibilizando sua atenção para colaborar com a coleta dos espécimes; **Tânia Mara da Silva** por ser um ser humano fantástico, inteligente e amiga, carrego a responsabilidade de manter o nível do nosso grupo de pesquisa desde o momento que te conheci, ter a sua presença junto a professora **Renata Marques de Melo Marinho** um verdadeiro símbolo de pesquisadora de elegância e extrema educação, tornou meu EGQ memorável; ao **Tiago Moreira Bastos Campos** que durante várias vezes foi presente, ajudando desde a etapa de formatação do projeto com ideias, sugestões e conselhos, até no auxílio das interpretações dos resultados, sempre com muita paciência e carinho; ao professor **Clóvis Pagani** por me devolver o espírito da docência e confiança após um período de insegurança e tristeza dentro da pós-graduação; a professora **Karen Cristina Kazue Yui** por toda a positividade, carinho, amizade e palavras de afeto durante toda minha passagem desde dentística II, oclusão e escultura, e principalmente em dentística I, um verdadeiro anjo em forma de professora; e a melhor dupla do Departamento de Prótese e Materiais Dentários, **Manassés Tercio Vieira Grangeiro** e **Camila da Silva Rodrigues** pelos fins de semana, cafés e por todos os

ensinamentos transmitidos, mesmo que em um curto período, não poderia deixar vocês de fora, quem diria?! unidos pelo acaso.

Como se não bastasse, outros personagens acabaram surgindo no caminho que também não posso deixar de lado. Agradeço também: ao professor **Sérgio Lúcio Pereira de Castro Lopes** pelos ensinamento, dedicação, empenho e me lembrar porque continuo interligado ao diagnóstico, terei para sempre “registrado” o momento do melhor elogio que eu poderia receber em uma banca de TCC que eu coorientei, quando ouvi a sua frase “*esse trabalho é tão bom, parece que foi feito para qualquer dentista ler e entender*”, é o maior princípio científico que aprendi durante minha graduação e continuo acreditando fielmente; ao professor **Eduardo Bresciani**, por me estimular a conhecer sobre diferentes métodos de pesquisa, discutir temas variados, técnicas estatísticas, interpretar resultados por trás de trabalhos científicos, sempre me dando um voto positivo até mesmo para orientar seus alunos, isso tudo enquanto faz faculdade, viaja, faz pão, estuda francês, caça Pokémon, compete em corrida/natação contra crianças e entre outros afazeres. Brincadeiras à parte muito do meu amadurecimento científico foi marcado desde o crédito de metodologia científica sendo coroado com a sua participação como membro na banca da minha defesa.

A pós-graduação me permitiu a oportunidade de ser docente auxiliar nas clínicas e laboratórios onde tive a satisfação de encontrar pessoas que assim como eu desejam vencer na vida através da educação, dos muitos que tive a oportunidade de estar próximo todos ajudaram no meu crescimento pessoal. Porém, não posso deixar passar sem lembrar de **Ana Paula Valente Pinho Mafetano** e da melhor dupla de docência que uma pessoa poderia ter **Amanda Guedes Nogueira Matuda**, porque dividir docência do lado delas foi onde tive as melhores lembranças como professor auxiliar, gostaria que todos tivessem a oportunidade de ter pessoas como elas por perto. Agradeço também ao melhor “estepe” que eu poderia ter na pós-graduação, **Pedro Caio Alves Barros** fez e continua fazendo parte do meu desenvolvimento como pesquisador, é sempre importante deixar claro que eu consigo ver o amigo e o profissional incrível que ele é, nisso eu continuo acreditando.

Outro ponto importante vem com meu agradecimento aos membros do grupo de pesquisa do qual faço parte: **Mateus Rodrigues Silva**, **Claúdio Moreira Júnior** e **Victória Garcia de Carvalho**, obrigado pela amizade, por dividirem toda técnica, didática, vivência e dedicação pela ciência que vocês tem, adquirido por anos de estudo atuando pelo nosso grupo, mas principalmente um obrigado a minha dupla **Rafael Pinto de Mendonça** por estar comigo nessa aventura desde o início, nossa relação é tão forte que não consigo imaginar fazer mestrado sem você por perto. Eu sinto uma enorme responsabilidade para manter o nível de cada um vocês.

Por fim, darei um foco especial, todos merecem ter por perto uma pessoa que: te inspire, brigue por você, seja um verdadeiro símbolo, um farol no meio a escuridão, ou simplesmente que demonstra o quanto acredita em você e no seu potencial. Eu tive a sorte em poder dizer que tenho essa pessoa, talvez eu poderia fazer uma redação inteira só sobre ele e o quanto ser orientado dele mudou a minha vida, mas professor **Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves** foi muito mais que um simples orientador, ele foi um mentor, alguém que se eu der sorte espero chegar pelo menos 10% do que ele é na minha visão, eu só tenho a agradecer o universo por me fazer parar ao seu lado, você me acolheu, me fez evoluir profissionalmente em um nível quântico, o senhor tem minha eterna lealdade e carinho, considero você e **Ricardo Brayner** uma extensão da minha família em São José dos Campos.

"Não devemos nos questionar porque algumas coisas nos acontecem, e sim o que podemos fazer com o tempo que nos é dado". Gandalf, o Cinzento
(The Lord of the Rings: The Fellowship of the Ring)

RESUMO

Silva Júnior JP. Impacto da irradiação com laser Nd:YAG sobre primer de adesivo convencional na adesão à dentina [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

A irradiação da dentina com o *laser Nd:YAG* mostra-se promissora para a qualidade da adesão, desde que aplicada sob parâmetros específicos e em etapas definidas. O objetivo deste estudo é avaliar de forma comparativa, o impacto da irradiação com *laser de Nd:YAG* sobre a formação e estabilidade da camada híbrida em dentina humana, pré-tratada com ácido e *primer* de sistema adesivo convencional, “*in vitro*”. Setenta molares hígidos tiveram suas raízes e porções coronárias seccionadas horizontalmente, até completa exposição de dentina oclusal. As amostras foram divididas em: G1 (controle n=20); G2 (experimental n=20), sendo 10 dentes de cada grupo destinados ao microcisalhamento (MC) e 10 dentes à microscopia eletrônica de varredura (MEV). Nos 30 dentes restantes analisou-se: textura por Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico (AT=15); e Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR=15) em 3 momentos: dentina controle; após tratamento com ácido + *primer*; e posterior à irradiação a *laser*. Estatisticamente, optou-se por ANOVA 1 fator, Qui Quadrado de Pearson, teste T e múltiplas comparações de Tukey com significância de 5%. A FTIR evidenciou redução dos níveis de fosfato e carbonato nos momentos *primer* e após irradiação *laser*, porém não havendo desnaturação do colágeno exposto. A análise de textura evidenciou uma tendência à formação de um tecido mais padronizado após o uso do *laser*. O teste de MC evidenciou valores médios de 36,5 e 35,2MPa para G1 e G2 respectivamente ($p>0,05$) e portanto, de forma imediata, o *laser* não mostrou efeitos deletérios ao processo adesivo. Além disso, observou-se maior penetrabilidade do adesivo na avaliação em MEV após a aplicação do *laser*. Novas pesquisas com avaliação longitudinal mostram-se necessárias para verificar se o efeito do *laser* pode ter sido protetor da degradação hidrolítica, visto que há uma redução do conteúdo de água local durante a formação da camada híbrida.

Palavras-chave: hibridização dentinária; laser nd-yag; espectroscopia ftir; tomografia computadorizada de feixe cônico; resistência ao cisalhamento.

ABSTRACT

Silva Júnior JP. Impact of Nd:YAG laser irradiation on primer of conventional adhesive in adhesion to dentin [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

Irradiation of dentin with the Nd:YAG laser shows promise for the quality of adhesion, as long as it is applied under specific parameters and in defined steps. The objective of this study is to comparatively evaluate the impact of irradiation with Nd:YAG laser on the formation and stability of the hybrid layer in human dentin, pretreated with acid and primer of conventional adhesive system, "in vitro". Seventy healthy molars had their roots and coronal portions horizontally sectioned, until complete exposure of occlusal dentin. The samples were divided into: G1 (control n=20); G2 (experimental n=20), with 10 teeth from each group destined for microshearing (MC) and 10 teeth for scanning electron microscopy (SEM). In the 30 remaining teeth analyzed: texture by Cone Beam Computed Tomography (AT=15); and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR=15) in 3 moments: dentin control; after treatment with acid + primer; and after laser irradiation. Statistically, we opted for 1-way ANOVA, Pearson's Chi Square, T test and Tukey's multiple comparisons with a significance of 5%. FTIR showed a reduction in phosphate and carbonate levels in the primer moments and after laser irradiation, but there was no denaturation of the exposed collagen. The texture analysis evidenced a trend towards the formation of a more expressive tissue after the use of the laser. The CM test showed mean values of 36.5 and 35.2MPa for G1 and G2 respectively ($p>0.05$) and therefore, immediately, the laser showed no deleterious effects on the adhesive process. In addition, greater penetrability of the adhesive was observed in the SEM evaluation after laser application. New studies with longitudinal evaluation are necessary to verify if the laser effect could have been protected from hydrolytic degradation, since there is a reduction in the local water content during the formation of the hybrid layer.

Keywords: dentin-bonding agents; lasers, solid-state; spectroscopy, fourier transform infrared; cone-beam computed tomography; shear strength.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Estudos em dentina	14
2.2 Métodos <i>in vitro</i> para avaliação de performance.....	17
2.3 A formação da camada híbrida e suas diferentes técnicas.....	20
2.4 Uso de <i>laser</i> durante processo de hibridização	22
3 PROPOSIÇÃO	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Critérios éticos da pesquisa e coleta das amostras	25
4.2 Distribuição e preparo das amostras.....	25
4.3 Testes quantitativos e qualitativos referentes ao estudo.....	35
4.3.1 Análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	35
4.3.2 Análise de textura com tomografia computadorizada de feixe cônico (AT).....	38
4.3.3 Ensaio de resistência adesiva por microcissalhamento (MC)	43
4.3.4 Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	48
4.4 Análise estatística	50
5 RESULTADOS	51
5.1 Espectroscopia de infravermelho de transformada de Fourier - FTIR...	51
5.2 Análise de textura - AT.....	53
5.3 Microcissalhamento - MC	61
5.4 Microscopia eletrônica de varredura - MEV	63
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS.....	73

1 INTRODUÇÃO

A adesão é o processo pelo qual substratos iguais ou distintos se unem mediante a promoção de um íntimo contato entre suas respectivas superfícies (Nakabayashi et al., 1982; Bedran-Russo et al., 2017). Entretanto, é necessário um tratamento local para garantir a quebra da tensão superficial e o aumento da energia de superfície, permitindo assim a penetração do material adesivo no tecido correspondente (Perdigão, 2020; Van Meerbeek et al., 2020). A interação entre adesivo e o substrato é estabelecida e se mantém estável devido à formação de diferentes forças produzidas após a completa maturação do material, podendo ser de origem química, física e principalmente micromecânica (Breschi et al., 2018).

A morfologia dos tecidos que compõe o órgão dental possui diferentes origens embrionárias, conferindo a estes tecidos características intrínsecas específicas (Arola et al., 2017). O esmalte, de origem ectodérmica, formado pela ação dos ameloblastos, é dotado de alta concentração de matriz inorgânica, com pouca quantidade de água e matriz orgânica, conferindo dureza ao tecido, porém, tornando-o friável e dependente de uma outra estrutura que sirva de suporte a esse tecido (Lacruz et al., 2017). A dentina por sua vez, de origem mesodérmica, heterogênea, promove sustentação ao esmalte, contendo proporção mista e mais equilibrada de conteúdo orgânico e inorgânico, mas, com grande volume de água, oriunda da direta interação com o tecido pulpar (Samartzi et al., 2021). Esses fluidos transitam pelos canalículos dentinários de maneira intermitente produzido pelos odontoblastos mediante estímulos pulpares durante toda a vida de um indivíduo (Garberoglio, Brännström 1976; Fusayama et al., 1979; Arola et al., 2017).

Para que ocorra a união entre material restaurador e substrato deve-se atentar ao preparo do tecido por conta de sua composição diferenciada (Perdigão et al., 2017). Ao esmalte, o processo de adesão se mostra eficaz desde que o tecido seja condicionado e infiltrado pelo adesivo a partir das microretenções produzidas pela desmineralização superficial. (Buonocore, 1955; Van Meerbeek et al., 2020). Por outro lado, na dentina, pelos desafios da própria configuração tecidual e em decorrência da constante produção de fluidos pulpares, o processo adesivo encontra obstáculos (Fusayama et al., 1979). Esses obstáculos podem estar relacionados, além dos

fatores estruturais já mencionados, ao estabelecimento e preservação da interface adesiva, independentemente do tipo de condicionamento tecidual, devido a hidrólise iniciada pela separação de fases do adesivo e perpetuada pela ação enzimática (Nakabayashi et al., 1982; Spencer et al., 2012; Spencer et al., 2014; Silva et al., 2022).

Na odontologia, quando são abordados protocolos restauradores, preconizam-se técnicas adesivas que visam a formação da camada híbrida com estabilidade entre os substratos e o agente de união (Bedran-Russo et al., 2017; Breschi et al., 2018). Dentre as técnicas adesivas mais utilizadas estão: a convencional e a autocondicionante, nas quais a diferença se dá pela forma de união micromecânica e/ou química particular de cada sistema (Burke et al., 2017). No entanto, existe a possibilidade de agregar a utilização de métodos coadjuvantes para fins adesivos, como o uso de *lasers*, desde que aplicados sob parâmetros específicos e em etapas definidas do processo adesivo (Gonçalves et al., 1999; Matos et al., 2000; Franke et al., 2006; Batista et al., 2015; Maenosono et al., 2016; Silva et al., 2016; Santis et al., 2017; Zabeu et al., 2018).

A irradiação à *laser* pode, de acordo com a intensidade, resultar em diferentes interações com o tecido exposto: biomodulação por ação fotoquímica; ablação por ação fototérmica; ou fusão por ação fototérmica (Marimoto et al., 2013; Tzanakakis et al., 2021). O *laser* de *neodímio: ítrio-alumínio-granada* ou *Nd:YAG* é um exemplo de *laser* que emite irradiância em alta intensidade responsável pela modificação tecidual, resultando em fusão do substrato, pelo aumento da temperatura local (Marimoto et al., 2013; Barcellos et al., 2015; Silva et al., 2016). Aplicado como pré-tratamento sobre os tecidos, a fusão impede a penetração do adesivo, dificultando a adesão (Matos et al., 2000).

No entanto, a aplicação do *laser* sobre o adesivo não polimerizado, oferece a possibilidade de fusão do tecido na presença dos monômeros, aumentando a resistência adesiva imediata (Gonçalves et al., 1999). Porém, ainda na dependência de uma seleção ideal dos parâmetros de aplicação e da forma de utilização do *laser*, seja por meio de: com contato em varredura; ou sem contato com maior área de abrangência; seja pela aplicação do *laser* sobre o *primer* ou sobre o adesivo, o que impulsiona a necessidade da pesquisa neste setor (Gonçalves et al., 1999; Barcellos et al., 2015; Zabeu et al., 2018). A aplicação do *laser* sobre *primer* pode permitir a

análise do tecido modificado por meio da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e pela tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC), até então não observadas na literatura consultada.

Os estudos *in vitro*, compõem a base da evidência científica, e são capazes de simular laboratorialmente condições próximas ao natural (Soares et al., 2016; Silva et al., 2016). Pesquisas envolvendo biomateriais com fundamentação *in vitro*, podem ser interpretadas através de resultados gerados por testes quantitativos (mecânicos de resistência adesiva) e/ou qualitativos (como a espectroscopia, tomografia e técnicas de microscopia) (Spencer et al., 2012; Spencer et al., 2014; Van Meerbeek et al., 2020; Costa et al., 2021). Após interpretação, se validados, esses resultados podem servir como guia para pesquisas mais aprofundadas sobre o tema, inclusive clínicas, que oferecerão evidências de relevância ainda maior (Gonçalves et al., 1999).

2 REVISÃO DE LITERATURA

A seleção das bibliografias utilizadas neste estudo partiu da base de dados *PubMed* e *Scopus*. Este trabalho revisa artigos publicados relevantes ao tema. A busca originou-se desde a evolução dos protocolos adesivos, passando pela utilização de *laser Nd:YAG* como coadjuvante na formação da camada híbrida até os métodos para análise dos substratos tratados.

2.1 Estudos em dentina

A dentina, é um tecido heterogêneo e possui características únicas relacionadas a sua composição, além da direta interação com o conteúdo pulpar (Arola et al., 2017). A interação com materiais restauradores resulta em constantes desafios adesivos (Perdigão et al., 2013; Silva et al., 2023). Por essa razão são produzidos estudos contínuos a fim de resolver questões clínicas importantes, como por exemplo a degradação a curto, médio e longo prazo do processo restaurador (Fusayama et al., 1979). A literatura explora métodos de avaliação laboratorial sobre a efetividade adesiva, por meio de estudos *in vitro*, utilizando dentes humanos extraídos como ferramentas de acesso fácil e rápido ao comportamento do material (Memarpour et al., 2018). Os estudos laboratoriais em termos de execução e coleta de dados são mais rápidos em comparação aos estudos clínicos, embora estes ofereçam a melhor condição de avaliação comportamental do material em análise (Soares, Santo, 2015; Da Rosa Rodolpho et al., 2022).

Em dentina, por se tratar de um tecido desafiador, para que ocorra uma análise mais completa quanto ao método restaurador ou modificador do tecido, se faz necessário analisar a sua performance em condições variadas (Fusayama et al., 1979). Essas análises podem ser realizadas através de diferentes metodologias, variando entre qualitativas e/ou quantitativas (Morgan et al., 2019; Topbasi, Benklin 2020; Ramic et al., 2021; Spencer et al., 2014). As qualitativas, são referentes à formação e manutenção da camada híbrida no que se refere à: integridade,

espessura, características de *tags* resinosos, defeitos, degradação hidrolítica e presença de enzimas proteolíticas de degradação (MMPs) (Perdigão et al., 2013; Spencer et al., 2014). Já as quantitativas, se referem aos testes mecânicos de resistência flexural e de resistência adesiva expressos em megapascal (MPa) (Silva et al., 2016; Van Meerbeek et al., 2020; Perdigão et al., 2013). A união desses dois aspectos torna o estudo mais significativo, de forma que as interpretações e as conclusões geradas contribuam para a evolução do conhecimento na área (Memarpour et al., 2018).

A quantidade de dentina remanescente é um detalhe de grande significância quando se trata de estudos sobre adesão em dentina (Fusayama et al., 1979). A dentina superficial possui menor quantidade de túbulos com menor diâmetro (Soares, Santo, 2015). Já na dentina profunda a situação se inverte, devido à proximidade pulpar exibe grande quantidade de túbulos com elevado calibre podendo ser identificados (Perdigão et al., 2020; Van Meerbeek et al., 2020). Esta situação coloca a dentina profunda como um substrato ainda mais desafiador, pois apresenta-se mais úmida no momento do processo adesivo (Garberoglio, Brannstrom, 1976).

As características de mineralização também se mostram muito significativas aos estudos, pois frequentemente é utilizado dentina sadia para os testes, fato que dificilmente é observado em condições clínicas, onde a dentina afetada por cárie seria o substrato mais presente em tais condições. Esse tipo de dentina se mostra mais úmido e com menor resistência que o tecido sadio (Gonçalves et al., 1999; Silva et al., 2022). A dentina hipermineralizada representa outro substrato de grande relevância em virtude da elevação dos índices de lesões não cariosas pelo aumento da longevidade dos indivíduos. O estabelecimento de uma efetiva hibridização a esses substratos representa novos desafios para pesquisas relacionadas ao setor.

A estabilidade do processo e união em dentina é um desafio clínico notável frente as características oriundas de um tecido dinâmico, que apresenta modificações ao longo do tempo, movidas em decorrência de condições fisiológicas ou patológicas (Brendan-Russo et al., 2017; Arola et al., 2017). Sua heterogeneidade pode resultar na variabilidade dos resultados de resistência de união, o que pode variar mediante a fatores como: idade, tamanho e quantidade de túbulos dentinários (Franke et al., 2006; Santis et al., 2017). A dentina desempenha um papel importante através de sua composição rica em fibrilas de colágeno tipo I e moléculas não colágenas, ambas

componentes essenciais da interface dentina-adesivo (Brendan-Russo et al., 2017). Por ser um tecido intrinsecamente úmido, devido a interação de um processo hidrodinâmico com a polpa através dos túbulos dentinários, o protocolo adesivo se torna passível de falhas, causando consequências no desfecho restaurador, pois é praticamente impossível secar totalmente a dentina durante a etapa clínica, isso ocasiona baixos resultados de resistência de união e saturação incompleta da camada híbrida (Silva et al., 2016; Perdigão et al., 2020).

O elo de união à dentina se dar pela densidade e dimensões dos túbulos dentinários (Arola et al., 2017; Ramić et al., 2021). A hibridização das superfícies dentinárias é o principal mecanismo de resistência na fixação do material restaurador ao tecido, pois o condicionamento superficial que resulta na remoção da *smear layer* permite uma adequada estabilidade na formação da camada híbrida (Arola et al., 2017; Memarpour et al., 2018). A adesão entre este tecido e o material resinoso só é viável através das ligações: química, física e/ou micromecânica, porém, à medida que o preparo se torna mais profundo, aumenta-se o número de túbulos e consequentemente a interação com os fluidos do complexo dentino-pulpar, essa ligação se torna fraca e mais suscetível à biodegradação (Spencer et al., 2014; Brendan-Russo et al., 2017).

A umidade relativa da dentina exibe um papel de extrema importância na vitalidade deste tecido, mas essa água é um componente crítico para formação da camada híbrida resultando em porosidades, além de permitir a formação de íons de hidrônio (Perdigão et al., 2013; Memarpour et al., 2018). A grande maioria dos sistemas adesivos independentemente do fotoiniciador, exibe um perfil altamente hidrofóbico, o que de acordo com Silva et al. (2023) compromete o desempenho do material em ambiente úmido, pois a degradação hidrolítica causada pela separação de fases do adesivo na presença dos fluidos intrapulpares. Esse tipo de problematização gera questionamentos recorrentes na literatura, pois a existência de sistemas adesivos que utilizam monômeros mais hidrofílicos em seu conteúdo, permitem um elo diferenciado (Moosavi et al., 2013).

A degradação da interface adesiva obtida na dentina pode ser gerada por diversas condições, como por exemplo na presença das MMPs e /ou processo de hidrólise, levando à perda de retenção, descoloração marginal, microinfiltração, cárie secundária, entre outros (Hong et al., 2021). A capacidade das MMPs em contribuir

na degradação da camada híbrida de acordo com Brendan-Russo et al. (2017) se torna ativa durante o pré-tratamento do tecido, independente do sistema adesivo, o que indica a utilização de agentes inibidores como a clorexidina, porém, esse material para Perdigão et al. (2013) não impede o acúmulo de água na interface a longo prazo. Além disso, estudos mostram que este produto pode interferir na penetração dos monômeros através dos túbulos, levando a microinfiltração (Vivanco et al., 2020). A perda do colágeno pode permitir maior fluxo de água dentro e sob a camada híbrida, o que pode acelerar a plastificação da resina (Breschi et al., 2018).

2.2 Métodos *in vitro* para avaliação de performance

Os métodos mais comumente usados para avaliar a eficácia do procedimento adesivo são os testes de resistência mecânica, onde se destacam: a microtração; o microcisalhamento (MC); aliado as técnicas de microscopia como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), a microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia de força atômica (MFA) e o confocal, que oferecem imagens muito aproximadas da microestrutura do tecido analisado (Franke et al., 2006; Cardoso et al., 2019; Valizadeh et al., 2019; Li et al., 2020; Ramic et al., 2020; Ito et al., 2022). Além disso, pode-se observar avaliações das consequências da degradação hidrolítica, como: sorção e solubilidade; e presença de MMPs através da zimografia *in situ* (Giacomini et al., 2020; Silva et al., 2023). Métodos como FTIR, tomografia de coerência ótica (OCT) e TCFC, vem ganhando espaço por serem métodos não destrutivos das amostras, oferecendo novos parâmetros de comparação entre substratos tratados (Podoleanu 2012; Spencer et al., 2014; Queiroz et al., 2023).

Embasados nesse princípio, foram escolhidos diferentes equipamentos e técnicas que pudessem gerar observações relevantes para o entendimento do processo adesivo: a FTIR que atua na análise de alteração no padrão químico superficial da estrutura (Spencer et al., 2014; Lin et al., 2001; Morgan et al., 2019); a MEV, responsável por demonstrar através de cortes aumentados de diversos tamanhos regulados no próprio aparelho, estruturas e possíveis interações relevantes (Soares et al., 2015; Memarpour et al., 2018; Ramic et al., 2021); a análise de textura

(AT) por TCFC, método capaz de observar diferenças nos tons de cinza gerados em *software* sobre diferentes superfícies (Haralick et al., 1973; Nussi et al., 2022); e o ensaio de resistência de união por MC, que mensura o esforço causado no processo de tracionamento, testando o elo entre o material restaurador e o substrato (Ghajari et al., 2019; Valizadeh et al., 2019; Ahmed et al., 2022; Grangeiro et al., 2023).

A FTIR pode ser utilizada não só para verificação da composição química do substrato em análise, como também para a verificação da conversão de materiais poliméricos (Ye et al., 2009; Silva et al., 2023). Através desse equipamento pode-se observar modificações estruturais do tecido (Abedin et al., 2014). Além disso, evidencia-se processos como: a desnaturação do colágeno; a perda de água; e transformação de ligações químicas entre os constituintes poliméricos (Barcellos et al., 2015; Silva et al., 2016).

A escolha pela conduta adotada neste estudo é baseada na viabilidade do teste de FTIR, pois após a evaporação do solvente pode-se submeter o espécime ao teste e interpretar os resultados obtidos na dentina modificada, o que não ocorre após aplicação do *bond*, que não permite visualização da dentina quanto ao seu comportamento químico estrutural. Esta pesquisa é a pioneira ao analisar o efeito do *laser* sobre o substrato na presença de monômeros adesivos do *primer*, a partir da observação por FTIR. Esse fator é uma conquista significativa no método de avaliação e que pode fornecer relevantes contribuições para o entendimento de como a dentina se comporta mediante as condições do tratamento adesivo. Podendo ser ou não alterada por diferentes parâmetros do *laser* e pelos diferentes modos de aplicação na presença ou ausência de contato sobre a superfície. Dessa forma, tanto o FTIR quanto a TCFC representam ferramentas importantes na análise estrutural de tecidos sadios, intactos e/ou modificados (Nussi et al., 2022; Silva et al., 2023).

A AT através da TCFC surge como uma nova ferramenta para investigação das modificações superficiais de tecidos (Haralick et al., 1973). É uma técnica que visa o processamento de imagens de uma área a fim de extrair características relevantes, por meio do estudo dos padrões de textura existentes (Costa et al., 2023). Podendo ser entendida como características intrínsecas da imagem como: brilho, cor e distribuição de formas, que remetem a ideia de regularidade, rugosidade, suavidade, entre outras, por essa razão denominado de textura (Lubner et al., 2017). Esta técnica pode ser aplicada para diversos meios de exames de imagens, tais como: a

ressonância magnética; a radiografia panorâmica; periapical; interproximal; e a TCFC, utilizado para uma classificação eficiente da imagem, baseada em parâmetros, ou para detectar variações sutis na distribuição de níveis de cinza da imagem (Haralick et al., 1973; Gonçalves et al., 2020; Costa et al., 2023; Nussi et al., 2023).

Assim as técnicas analíticas texturais matemáticas, são sensíveis e capazes de detectar mudanças que o olho humano não seria capaz de detectar por possuir limitada sensibilidade. A avaliação visual é subjetiva, depende muito do observador, mas já as técnicas analíticas texturais matemáticas são objetivas, por serem métodos quantitativos. Desta forma, diagnósticos baseados somente na inspeção visual, constituem-se em métodos que podem levar a conclusões subestimadas, sendo assim, uma busca por uma maior especificidade na avaliação das imagens diagnósticas (Rosa et al., 2020; Nussi et al., 2023; Queiroz et al., 2023).

Os testes de resistência de união são os testes mais encontrados na literatura como forma de comparação da eficácia de técnicas e produtos (Ghajari et al., 2019). Tração, microtração, cisalhamento e MC oferecem uma excelente forma de previsibilidade da performance de sistemas restauradores em laboratório (Valizadeh et al., 2019; Grangeiro et al., 2023). Os testes que utilizam áreas menores oferecem menor geração de tensões e fraturas coesivas em substrato ou material restaurador (Ahmed et al., 2022). Desta forma a suposta verdadeira união adesiva pode ser medida com maior precisão, embora não possa ser extrapolada diretamente para a clínica, onde frequentemente existe uma combinação de outros fatores atuando sobre o processo (Ghajari et al., 2019; Da Rosa Rodolpho et al., 2022; Grangeiro et al., 2023). O MC avalia pequenas áreas de superfície de união no maior número de amostras que pode ser obtido no substrato, sendo de grande relevância pois a maioria das forças de deslocamento tem um efeito na interface da restauração semelhante a condição clínica (Ghajari et al., 2019; Ahmed et al., 2022).

A MEV oferece uma leitura de alta performance da superfície em análise quanto ao caráter qualitativo, com grande profundidade de ação e alta resolução, mesmo em elevados aumentos. Falhas, bolhas, defeitos, espessura da área adesiva, modos de fratura em diferentes aumentos e contrastes. O próprio vácuo requerido no preparo das amostras já evidencia uma característica muito importante da hibridização conseguida. Camadas híbridas deficientes não resistem ao processamento da amostra para análise em MEV (Gonçalves et al., 1999; Van Meerbeek et al., 2020;

Perdigão et al., 2021). Como a dentina é um tecido rico em colágeno, este é um elemento chave na composição da camada híbrida, assim torna-se essencial que o mesmo não seja danificado, a fim de garantir a resistência à hidrólise (Samartzi et al., 2021).

2.3 A formação da camada híbrida e suas diferentes técnicas

A formação da camada híbrida se dá através de pré-tratamentos do tecido que resultam na sua interação com o material restaurador (Perdigão et al., 2021). A partir do pré-tratamento o agente de união penetra e se imbrica ao substrato subjacente, constituindo-se na principal barreira à penetração bacteriana e o elo de ligação entre substrato e material (Nakabayashi et al., 1982). A hibridização poderá ocorrer em esmalte ou dentina, adquirindo características próprias da combinação entre os adesivos e os tecidos envolvidos no processo (Buonocore, 1955; Fusayama et al., 1979; El Mourad, 2018).

Dentre as técnicas adesivas destacam-se: o condicionamento total e o autocondicionante (Burke et al., 2017). No condicionamento total, um agente ácido é utilizado de forma ativa para que uma desmineralização do conteúdo inorgânico gere microretenções no tecido (Kanniappan et al., 2022). Após o enxague, a camada de *smear layer* é removida, expondo a rede de fibras colágenas, permitindo a penetração de um monômero hidrofílico denominado *primer*, com fixação de uma porção hidrofóbica chamada *bond* (Breschi et al., 2018).

Esta técnica pode ser realizada através de 3 etapas onde os frascos se mantêm separados e utilizados em sequência, ou em 2 passos a partir da união das porções hidrofílicas e hidrofóbicas em um mesmo frasco (Bredan-Russo et al., 2017). Em esmalte, por apresentar uma estrutura basicamente mineral, o agente condicionante expõe os prismas ou sua periferia aumentando a energia e a área de superfície, permitindo a formação dos *tags* resinosos que auxiliam no embricamento micromecânico do material adesivo (Zhu et al., 2014). Por outro lado, em dentina não existem prismas. Neste tecido o agente condicionante também atua no conteúdo inorgânico, onde após a remoção da camada residual de *smear layer*, ocorre a

exposição das fibras de colágeno e dos túbulos dentinários (Fusayama et al., 1979; Bredan-Russo et al., 2017). O material adesivo penetra nos espaços interfibrilares envolvendo as fibras restando-se micromecanicamente após polimerização, ao mesmo tempo em que sela a embocadura dos túbulos e gera longos *tags* resinosos que podem se anastomosar no trajeto (Perdigão et al., 2013; Kanniappan et al., 2022).

Por outro lado, essa técnica que é bastante efetiva ao esmalte, mostra-se agressiva na dentina (Perdigão, 2020; Van Meerbeek et al., 2020). Estudos demonstram evidências sobre a degradação da camada híbrida por hidrólise e estímulo da atividade das MMPs por ação ácida (Vivanco et al., 2020; Perdigão et al., 2013). A criação da zona de fragilidade, gerada pela diferença na profundidade de desmineralização e capacidade de penetração do adesivo, pode representar um dos maiores desafios dos sistemas convencionais (Hong et al., 2021; Frank et al., 2006). As denominadas “*water trees*” ou árvores de água e a separação de fases do adesivo frente ao contato com o fluxo de fluido, representam potentes agentes de degradação por nanoinfiltração e hidrólise (Tay et al., 2003). Assim, ainda é preciso ser desvendado mais sobre as interações das diferentes técnicas e sistemas com os substratos.

No sistema autocondicionante, a adesão se dá através de ligações químicas provenientes da interação de moléculas do material aos minerais do tecido (Perdigão et al., 2021). A porção hidrofílica desse sistema exibe características mais acídicas e substituirá o condicionamento convencional, gerando uma integração da *smear layer* à camada adesiva (Digole et al., 2020). Esta técnica, pode ser realizada através de duas etapas descartando o uso de ácido fosfórico, restando os frascos separados de *primer* ácido e *bond* utilizados em sequência, ou em única etapa, onde um frasco apresenta todos os componentes anteriormente citados (Bedran-Russo et al., 2017).

Entretanto os agentes autocondicionantes não exibem adequado potencial ácido para tratar o esmalte, apresentando resultados catastróficos em termos de adesão longitudinal (Burke et al., 2017; Vivanco et al., 2020). No entanto, em dentina, por oferecerem menor agressividade, parecem mais adequados a esse substrato. A integração da *smear layer* e criação da *nanolayer* com o cálcio residual da ligação química, além da não formação da zona de fragilidade e reduzida estimulação das MMPs, representam vantagens consideráveis destes sistemas (Perdigão et al., 2020). Devido potencial mais hidrofílico, acabam por demonstrar excessiva capacidade de

serem permeados pelo fluxo do fluido, se comportando como membranas semipermeáveis (Breschi et al., 2018)

A partir desses sistemas, surgiram os adesivos denominados universais, que podem ser empregados como convencionais ou autocondicionantes (Cardoso et al., 2019; Kanniappan et al., 2022). O adesivo universal atua com os mesmos mecanismos de ligação citados anteriormente para a formação da camada híbrida independente do substrato (Moosavi et al., 2013). Além disso, podem ser utilizados não só em restaurações diretas como também em restaurações indiretas dispensando a silanização das peças, sejam em: resina composta; cerâmicas odontológicas, ou mesmo metais (Hong et al., 2021).

2.4 Uso de *laser* durante processo de hibridização

Implementar a irradiação a *lasers* nos procedimentos odontológicos é um método versátil que está disponível para utilização no âmbito clínico (Tzanakakis et al., 2021). Quanto a sua aplicação, pode ser direcionada de acordo com o nível de intensidade na qual ele será exposto sobre o tecido, podendo ser dividido nos quesitos de alta e baixa intensidade (Bolortuya et al., 2012). Em cada uma das intensidades existe uma indicação e um efeito esperado, resultando em um aparelho que atua como coadjuvante dos tratamentos empregados pelo cirurgião-dentista (Bolortuya et al., 2012; Tzanakakis et al., 2021;).

Os *lasers* com intensidades consideradas baixas atuam em tecidos moles da cavidade oral, agindo diretamente na estimulação ou biomodulação tecidual (Tzanakakis et al., 2021). Entretanto, para atuação em tecidos duros necessita-se de uma maior intensidade que possa gerar modificações teciduais consideráveis (Gonçalves et al., 1999; Franke et al., 2006; Barcellos et al., 2015). A resposta será diferenciada, mostrando efeitos de ablação atuando na remoção tecidual ou fusão gerando derretimento do substrato (Silva et al., 2016; Tzanakakis et al., 2021). Os principais *lasers* de alta intensidade são: *erbium (Er:YAG)* ou *Er:YSGG*; *neodímio (Nd:YAG)*; *CO₂* e diodo (Zezell et al., 2009; Marimoto et al., 2013; Maenosono et al., 2016; Tzanakakis et al., 2021).

Para adesão aliada a irradiação à *laser* em alta intensidade, se faz necessário modificar o tecido responsável pela alteração de temperatura da região alvo, nesse caso o *laser Nd:YAG* permite a fusão do substrato causando obliteração dos túbulos dentinários resultando em um tecido neoformado (Gonçalves et al., 1999). Contudo, vale ressaltar, que a relação entre tempo e contato do aparelho sobre o substrato, pode gerar efeitos indesejáveis, como o aumento exponencial da temperatura (Silva et al., 2016). No entanto, reconhecer o melhor momento para atuação do *laser* torna-se de suma importância, frente à aplicação prévia da irradiação, o tecido poderá ser fundido e o adesivo não conseguirá penetrar e estabelecer a camada híbrida (Frank et al., 2006). Assim, o melhor momento para a aplicação da técnica é durante a hibridização em um tecido já está condicionado, sobre o adesivo não polimerizado (Gonçalves et al., 1999; Silva et al., 2016).

Existem evidências que ressaltam as vantagens da aplicação da técnica com *laser* sobre o sistema não polimerizado, como: aumento da espessura da camada híbrida, melhor qualidade de hibridização com menos *gaps* e maior número de *microtags* (Gonçalves et al., 1999; Barcellos et al., 2015; Silva et al., 2016). Além disso, evidenciou-se maior capacidade de evaporação dos solventes; maior grau de conversão dos monômeros do adesivo; e aumento da resistência adesiva de acordo com parâmetros definidos (Batista et al., 2015). Parâmetros esses que não foram capazes de causar aumento exagerado na temperatura pulpar; com menor nanoinfiltração e melhor módulo de elasticidade da camada adesiva (Araujo et al., 2001; Frank et al., 2006; Silva et al., 2016; Santis et al., 2017).

No entanto, a técnica que utiliza o *laser* odontológico requer uma varredura que clinicamente torna inviável o controle preciso da área irradiada, como se consegue laboratorialmente com motor de passo. Por esta razão, a utilização pela forma de não contato pode promover resultados mais uniformes e garantir maior segurança em termos de elevação de temperatura. Esta forma de aplicação ainda carece de investigação, assim como possíveis alterações no colágeno pós irradiação. A espectroscopia e a textura podem propiciar novas frentes de investigação.

3 PROPOSIÇÃO

Diante disso, o propósito deste estudo é avaliar de forma comparativa “*in vitro*” o impacto da irradiação com *laser Nd:YAG* sobre a formação e estabilidade da camada híbrida da dentina humana, pré-tratada com ácido e *primer* de sistema adesivo convencional. As avaliações escolhidas foram realizadas a fim de analisar a resistência de união e qualidade da interface utilizando como métodos: Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR); Análise de textura por tomografia computadorizada de feixe cônico (AT); Ensaio de microcisalhamento (MC); e a Microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As hipóteses (H) testadas:

- H01: o tratamento experimental com *laser* de *Nd:YAG* não influenciará o conteúdo químico do substrato dentinário observado por FTIR.
- H02: o tratamento experimental com *laser* de *Nd:YAG* não influenciará as características de textura do substrato dentinário observado por Tomografia Computadorizada.
- H03: o tratamento experimental com *laser* de *Nd:YAG* não influenciará os valores de resistência de união imediato à dentina.
- H04: o tratamento experimental com *laser* de *Nd:YAG* não influenciará a qualidade da interface de união imediata à dentina em termos de porosidades, falhas e características de *tags* observados por MEV.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa aborda como suas unidades de trabalho dentes posteriores humanos hígidos. Além disso, determinou-se como fator em estudo as duas formas de tratamento utilizando sistema adesivo convencional em 2 níveis. Esses níveis são caracterizados pela presença de *laser* durante o intervalo entre *primer* e *bond* e na ausência de *laser* caracterizada como protocolo controle.

4.1 Critérios éticos da pesquisa e coleta das amostras

O presente estudo inicialmente foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com Seres Humanos do Instituto de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista em São José dos Campos (ICT-UNESP). Projeto validado com número do parecer 6.006.428. Foram adquiridos 70 molares humanos hígidos recém extraídos armazenados em recipientes plásticos contendo água, descartando amostras com lesões cariosas, trincas/fraturas ou presença de quaisquer materiais restauradores.

4.2 Distribuição e preparo das amostras

Os dentes foram lavados, limpos e escovados através da associação de água e pedra pomes com auxílio de escova de Robinson (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil) acoplada ao contra ângulo em baixa rotação. Logo após, os dentes coletados, tiveram suas raízes seccionadas com auxílio de disco de corte diamantado dupla face (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) acoplado na peça reta, para exposição da região correspondente a dentina sobre a câmara pulpar (figuras 1 e 2). Posteriormente, congelaram-se os dentes nos recipientes plásticos contendo água deionizada à -18 graus *celcius* (°C) em freezer não excedendo 30 dias para realização dos testes. No

manuseio após o descongelamento, as amostras foram imersas em solução aquosa de timol a 0,1%, a 4°C com a finalidade de prevenir a desidratação e contaminação com o conteúdo líquido trocado diariamente até o momento da experimentação.

Figura 1 - Dente molar humano coletado



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2 - Coroa anatômica seccionada



Fonte: Elaborado pelo autor.

As coroas dos molares foram seccionadas novamente de maneira uniforme no sentido mesio-distal a aproximadamente 2mm da junção amelo-dentinária utilizando um disco de corte diamantado dupla face (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil). Logo após, realizou-se a mensuração inicial da porção de dentina com auxílio de especímetro obtendo aproximadamente 3mm de espessura de dentina usando o corno pulpar em ambas as extremidades como referência (figura 3). A área interna foi preenchida com cera 7 (Polidental, Cotia, SP, Brasil) como guia para as próximas etapas do preparo da amostra (figuras 4 e 5). As amostras foram então divididas de acordo com o fluxograma revisado após estudo piloto (figura 6).

Figura 3 - Mensuração da espessura inicial de dentina contendo 3mm em relação ao corno pulpar



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4 - Exposição da câmara pulpar para acesso ao teto



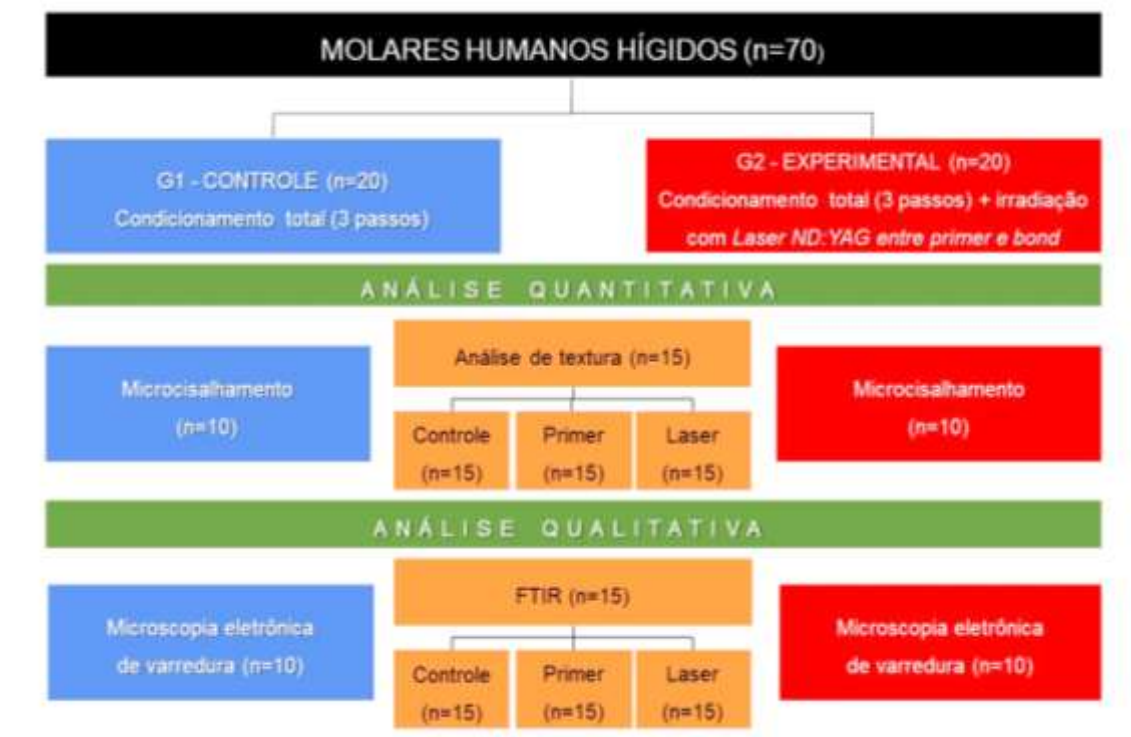
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5 - Simulação de preenchimento da câmara pulpar com cera 7



Fonte: Elaborado pelo autor.

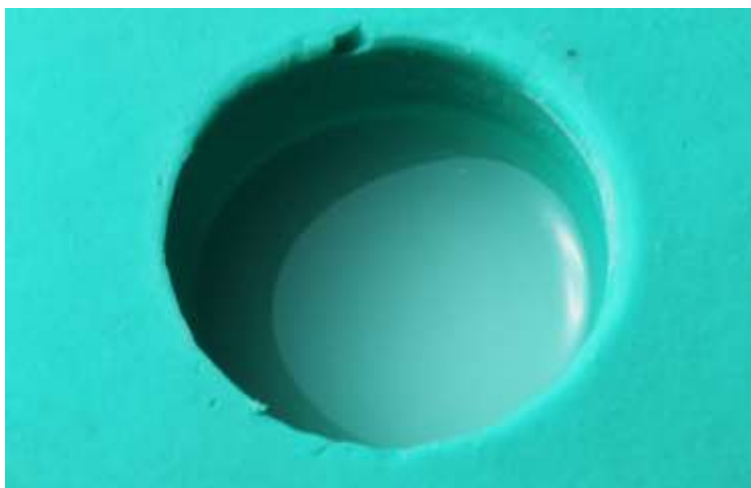
Figura 6 - Fluxograma de distribuição do estudo



Fonte: Elaborado pelo autor.

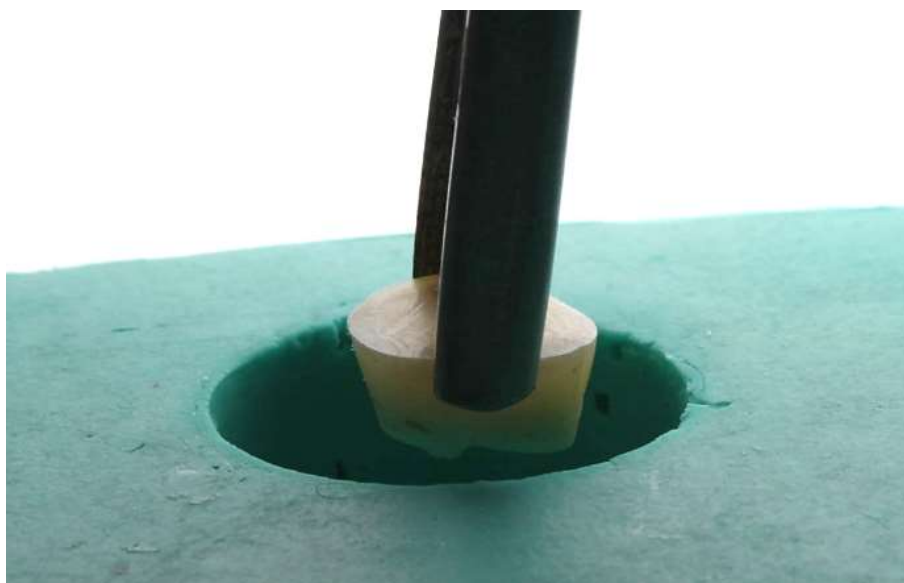
Mensurado a espessura inicial de dentina e distribuídos para seus respectivos testes, as amostras foram fixadas a partir de moldes siliconados com resina acrílica autopolimerizável incolor (Jet, Artigos Odontológicos Clássicos, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) de tal maneira que a superfície oclusal fosse posicionada voltada para a extremidade superior externa (figuras 7 e 8). Em seguida, realizou-se uma abertura com broca Minicut (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil) acoplada em peça reta na porção inferior do embutimento (figura 9). Ação essa destinada a expor a porção de cera, com posterior remoção do material utilizando curetas de dentina.

Figura 7 - Preparo da resina acrílica no interior do silicone para etapa de embutimento



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 - Momento da inserção da amostra na resina acrílica



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9 - Abertura e exposição da área correspondente a cera 7 após limpeza



Fonte: Elaborado pelo autor.

Posteriormente, de maneira sequencial por um período de 15 segundos (s) em movimentos circulares. Realizou-se desgastes e polimento na superfície oclusal exposta com lixas de granulação 600, 800, 1200 e 2500 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) em politriz (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil) utilizando 300rpm de velocidade, de forma que resulte no brilho desejado atingindo aproximadamente 2mm de espessura dentinária, não apresentando exposição do corno pulpar e com completa planificação da amostra (figura 10). A partir dessa etapa, os dentes então foram guardados em recipientes contendo soro fisiológico 0,9% em geladeira à 4°C.

Figura 10 - Mensuração da espessura final de 2mm da dentina após sequência de polimento



Fonte: Elaborado pelo autor.

Confirmado as medidas de forma padronizadas, posicionou a cera 7 novamente no local inicial, preencheu-se o orifício com resina acrílica autopolimerizável e lixou-se a base até alcançar o paralelismo do embutimento. Antecedendo qualquer teste, as amostras foram levadas ao estereomicroscópio (Discovery V20, Oberkochen, Alemanha) para descartar quaisquer resquícios de ilhas de esmalte na superfície amostral mais central (figura 11). Subsequentemente, as amostras foram então distribuídas de forma randomizada em 2 grupos recebendo o respectivo tratamento como descrito nas figuras.

Figura 11 - Análise microscópica com ausência de ilhas de esmalte na dentina



Fonte: Elaborado pelo autor.

No grupo controle (G1), realizou-se o tratamento restaurador utilizando de forma sequencial, condicionamento total com ácido fosfórico na concentração de 35% (Ultra-etch, Ultradent, Indaiatuba, SP, Brasil) durante 15s sobre a dentina. Posteriormente, lavou-se com jato de água e secou-se na associação de bolinha de algodão e sugador endodôntico descartável (SS Plus, Maringá, PR, Brasil). Com o tecido levemente úmido aplicou-se com auxílio de microaplicador (Aplik, Angelus, Londrina, PR, Brasil) o sistema adesivo convencional de 3 passos (Optibond FL, Kerr, Biberach, Alemanha) aplicando *primer* de maneira ativa, volatilizando o solvente com jato de ar, seguido da impregnação do *bond* de acordo com a recomendação de tempo do fabricante. Em seguida foi feito a fotoativação durante 40s com aparelho (Demi

Plus, Kerr, Biberach, Alemanha) emitindo $1100\text{mW}/\text{cm}^2$ de irradiância confirmado por radiômetro digital (Ecel, RD-7, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (figura 12).

Figura 12 - Sequência das etapas do preparo do grupo controle



Fonte: Elaborado pelo autor.

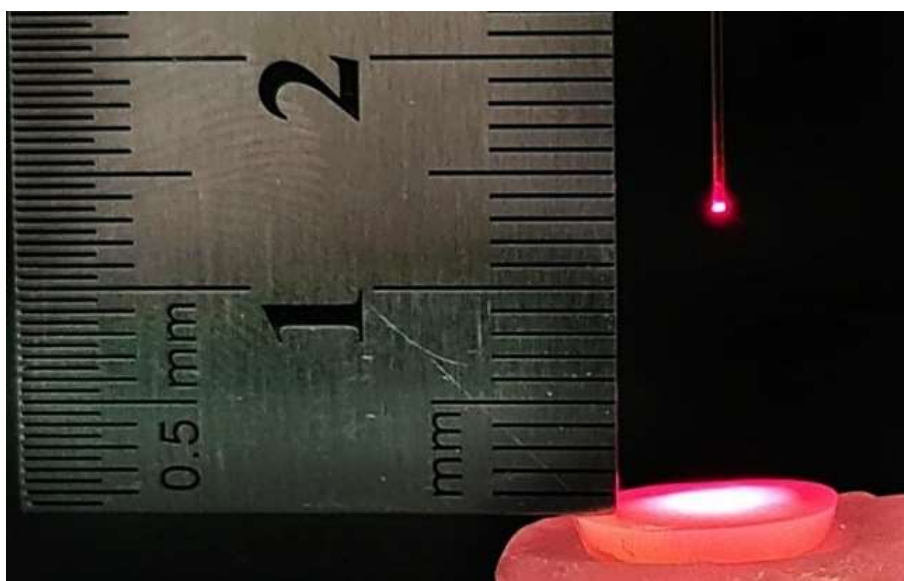
Nas amostras do grupo experimental (G2) realizou-se tratamento similar ao G1. Porém, no intervalo das etapas de *primer* e *bond* as amostras foram irradiadas com *laser Nd:YAG* (Pulse Master 600 IQ, American Dental Technologies Inc, Corpus Christi, EUA), dispensando a varredura, optando pelo modo não contado (figura 13). Nessa aplicação, desenvolveu-se uma base em resina acrílica adaptada com pregadores de madeira e plástico para a estabilizar o suporte da fibra óptica $400\mu\text{m}$. Recurso usado como base para os cálculos de: área iluminada em cm^2 **(A) = π * Raio do diâmetro da fibra (r)²**; densidade de energia em *Joule* **(D) = $0,1\text{J} / \text{A}$** ; e tempo em segundos **(T) = densidade desejada $5\text{J}/\text{cm}^2 / \text{A}$** , a fim de atingir a área desejada com a correta potência em única aplicação, resultando em 66s de aplicação (figuras 14, 15 e 16). A partir do piloto prévio optou-se pelos parâmetros: 100 Q[mJ]; 10 fp[Hz]; 1.0 Pav[W] durante 60s. Finalizada a irradiação, aplicou-se o *bond* e finalizou-se o selamento imediato da dentina da mesma forma que o G1.

Figura 13 - Sequência do tratamento restaurador do grupo experimental



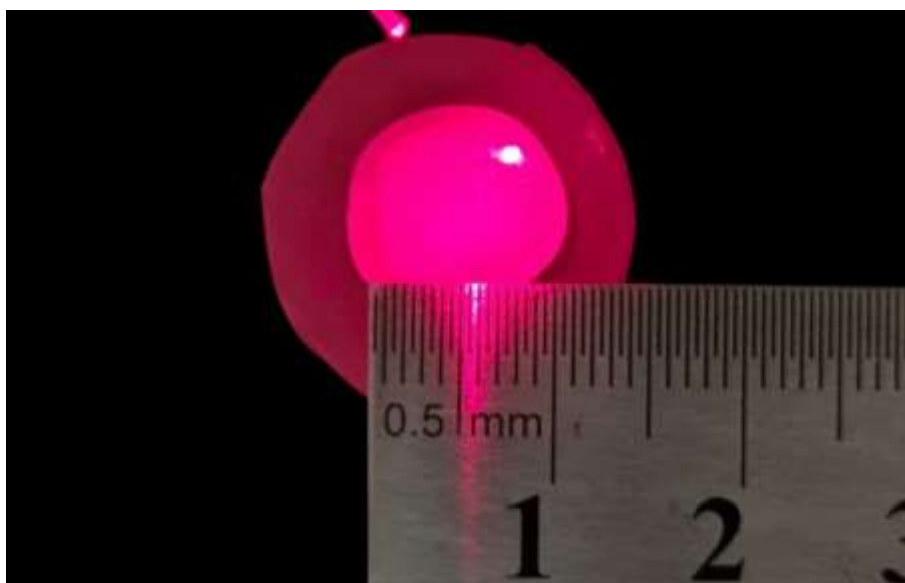
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14 - Altura em relação a área irradiada



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15 - Área irradiada na proporção largura



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 16 - Dispositivo acrílico ligado a pregadores para fixação da fibra



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Testes quantitativos e qualitativos referentes ao estudo

No decorrer desses testes a metodologia sofreu pequenas modificações nas etapas de confecção dos espécimes. Essas mudanças estão identificadas nos seus respectivos tópicos, dependendo de cada teste escolhido. Em resumo, para facilitar na distribuição durante os testes, as amostras foram preparadas para o FTIR e AT no primeiro momento, seguido do preparo para o ensaio de resistência de união por MC e MEV.

4.3.1 Análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Previamente ao teste, as amostras foram submetidas inicialmente a limpeza e regularização da *smear layer* a fim de auxiliar na leitura do aparelho, mergulhadas em solução de água destilada em cuba ultrassônica com a superfície oclusal voltado para o conteúdo líquido em contato com a grade do aparelho, ativada por 15 minutos em cuba ultrassônica. Após a finalização do tempo determinado, removeu-se as amostras da cuba levando-as a geladeira à 4°C no interior de recipiente plástico contendo solução de soro fisiológico na concentração de 0,9%. Posteriormente ao período de 48h, as amostras foram retiradas do recipiente e secas com gaze e de forma natural sobre mesa em ambiente controlado a 25°C. A análise das possíveis mudanças na composição química das amostras, foram avaliadas em FTIR (FT-IR, PerkinElmer Waltham, Massachusetts, EUA), equipado com um acessório de reflexão total atenuada (ATR) em 3 momentos distintos para a mesma amostra (figuras 17, 18 e 19):

- Após a completa exposição da dentina: **controle**
- Subsequente a aplicação de ácido fosfórico 35% e *primer*: **pré-tratada**
- Finalizada a aplicação do *laser*: **irradiada**

Figura 17 - Dentina controle



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18 - Dentina pré-tratada



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19 - Simulação de dentina irradiada



Fonte: Elaborado pelo autor.

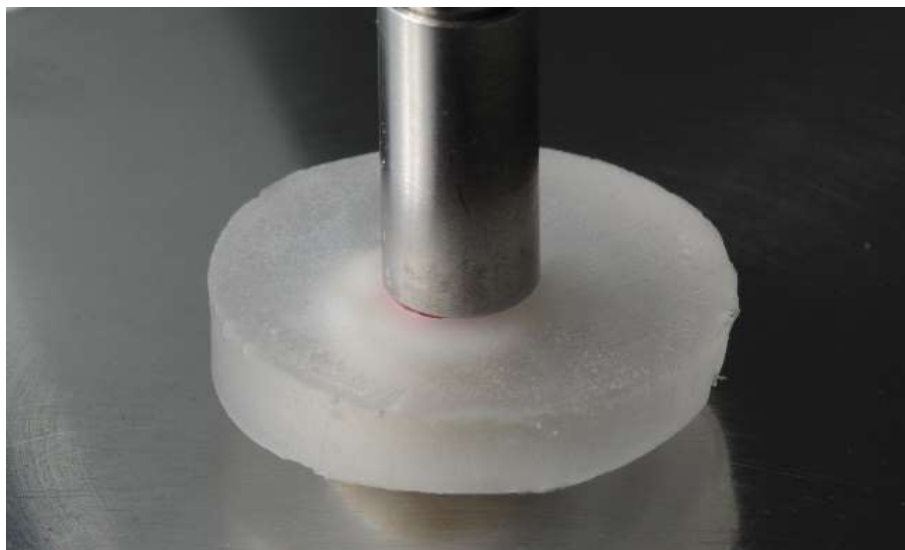
A superfície de cada espécime foi posicionada sobre a superfície do ATR e pressionada com auxílio de célula de carga plana (CCP) de aço inoxidável em 100 gf, para se obter o maior contato do espécime com o cristal de diamante do ATR limpo de maneira prévia a leitura com bastonetes (Cotonetes, Johnson & Johnson, New Jersey, EUA) embebido em álcool isopropílico (figuras 20 e 21). Os espectros de infravermelho foram registrados automaticamente através de 5 pontos reposicionando a mesma amostra no equipamento, utilizando computador acoplado para mapeamento do ensaio, através de *software* (*Spectrum* versão 10.4.3, PerkinElmer Waltham, Massachusetts, EUA), adquiridos no modo de absorbância, com faixa de transmissão entre 4000 e 650 cm^{-1} , 32 varreduras, a uma resolução de 4 cm^{-1} . As bandas de absorção consideradas para este estudo foram as superposições dos modos de vibração: ν_1 e ν_3 de fosfato (1300-900 cm^{-1}), amida I (1680-1600 cm^{-1}), amida II (1580-1480 cm^{-1}); ν_2 modo de vibração do carbonato (cerca de 870 cm^{-1}); superposição do alongamento ν_3 e flexão ν_4 modo vibração de carbonato (entre 1600-1300 cm^{-1}).

Figura 20 - Limpeza do cristal de ART



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 21 - Disposição da amostra sobre o ATR



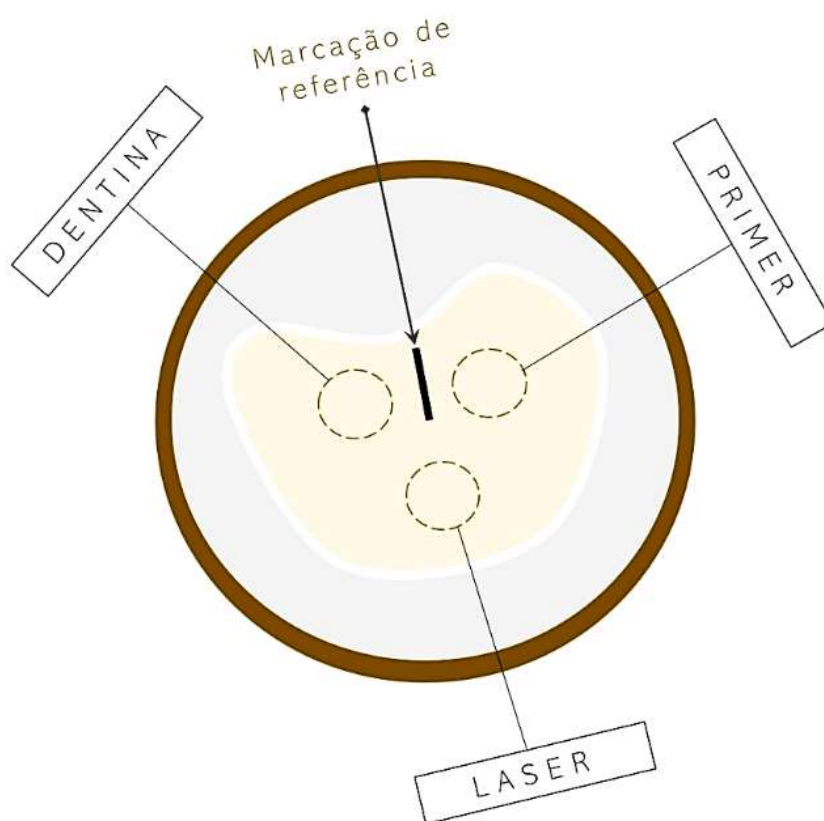
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.2 Análise de textura com tomografia computadorizada de feixe cônico (AT)

No preparo das amostras, foram selecionados os dentes, demarcados suas superfícies em 3 pontos, no formato de círculos, 2 na porção superior e 1 na porção inferior de cada amostra com o auxílio de ponta diamantada #1012 acoplada em alta

rotação com 0,5mm de profundidade conformado pela sonda periodontal, cuja distância necessária foi o suficiente para identificar a separação das 3 áreas, seguido de uma depressão ao centro para facilitar no momento da identificação (figura 22). Posteriormente as demarcações, cada área circular representou uma leitura: dentina controle; dentina pré-tratada; e dentina irradiada (figura 23). Durante a execução do tratamento de superfície com ácido fosfórico e *primer*, a área correspondente a dentina controle foi selada com tira de terflon (Fita veda rosca, Tigre SA, Joinville, SC, Brasil). Subsequentemente, durante a irradiação com *laser Nd:YAG* somente na área correspondente a dentina irradiada utilizou folha de papel alumínio (Wyda, Sorocaba, SP, Brasil) como forma de proteção a exposição luminosa (figura 24).

Figura 22 - Esquema de identificação do espécime



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23 - Áreas circulares demarcadas após confecção



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 24 - Proteção das 2 áreas durante a irradiação com *laser Nd:YAG*



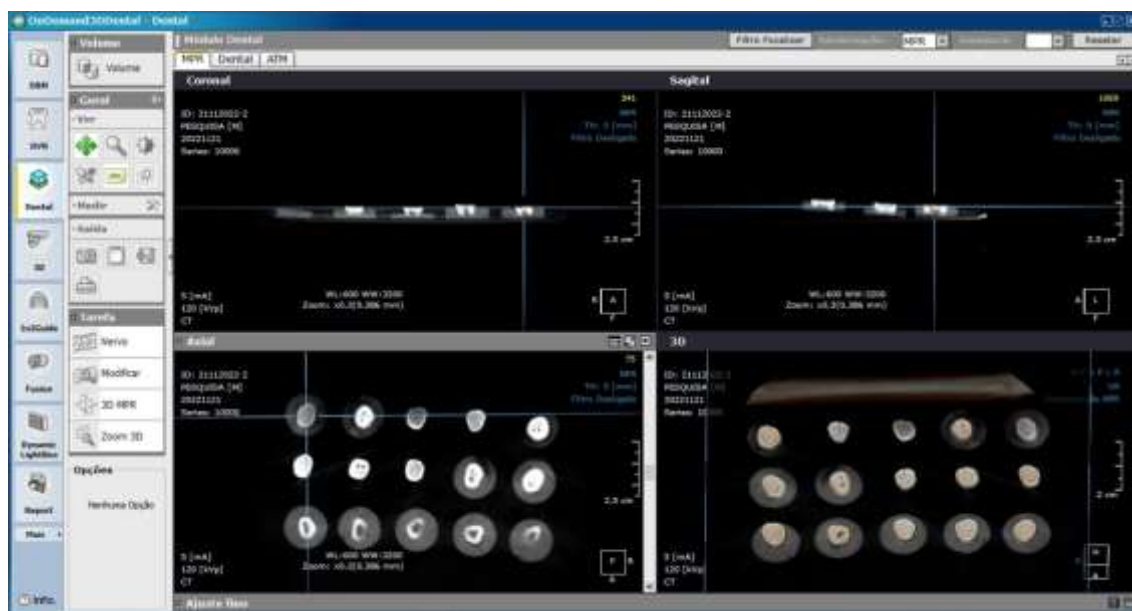
Fonte: Elaborado pelo autor.

Finalizado o preparo para o teste, os 15 espécimes foram posicionados em suporte plano para obtenção de imagens de tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) em tomógrafo (I-Cat Next Generation unit, Imaging Sciences

International, Hatfield, PA, USA). Operando com os seguintes parâmetros 120 kV, 10 mA, FOV de 16×8cm e.voxel de 0.25mm. Todas as imagens foram obtidas em formato Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM).

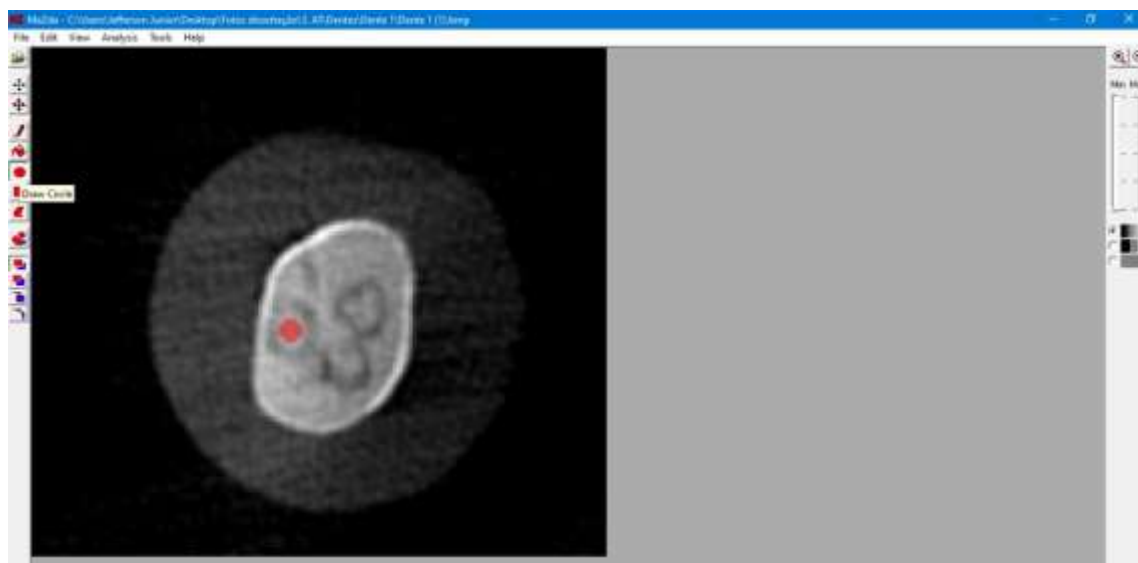
Posteriormente, os arquivos foram exportados no formato DICOM para o software: *OnDemand3D* (Cybermed Inc, Tustin, EUA) (figura 25). No *OnDemand3D*, na janela MPR que corresponde a reconstrução multiplanar, identifica-se os cortes axiais em que toda superfície do dente fosse visualizada em sua extensão. Atribuídos 3 cortes por cada área, estes cortes foram exportados no formato bitmap (.bmp) para visualização no software MaZda 4.20 (Institute of Electronics, Technical University of Lodz, Polônia). No software MaZda, cada região individual da dentina é delimitada pela ferramenta ROI circular para que fosse calculada a AT relativa a esta região, por meio da matriz co-ocorrência (MCO) (figura 26). O processo consiste em demarcar manualmente as regiões de interesse, por meio de ferramentas de delimitação presentes no próprio software baseado nos tecidos contidos nestas ROIs, gerando cálculos.

Figura 25 - Tela de manipulação após importação do DICOM dentro do software



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 26 - Delimitação do ROI na área circular de 1 dos cortes analisados



Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir do cálculo matemático/estatístico é gerado características registradas nesta região, utilizando 3 fatias para cada ROI. Os valores são quantificados por meio da MCO em 11 diferentes parâmetros, tabulando em combinações diferentes de valores de intensidade dos *pixels* através dos níveis de cinza que ocorrem em uma imagem. Para esse estudo foram selecionados somente 7 parâmetros com seus respectivos significados abaixo (quadro 1).

Quadro 1 - Significado dos parâmetros da MCO.

<i>AngScMom</i>	Medida de uniformidade da imagem
Contrast	Quantidade de variação nos níveis de cinza
Correlat	Dependência linear dos níveis de cinza entre pixels vizinhos
SumOfSqs	Medida da dispersão em relação à média da distribuição dos níveis de cinza
<i>InvDfMom</i>	Homogeneidade da distribuição de níveis de cinza da imagem
SumEntrp	desorganização da distribuição da soma dos níveis de cinza
Entropy	Grau de desordem entre os pixels da imagem

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.3 Ensaio de resistência adesiva por microcissalhamento (MC)

Nas amostras usadas para esse teste a etapa de embutimento foi alterada. Após confirmação da medida de espessura de dentina, foram embutidos novamente em resina acrílica da mesma marca comercial mencionada anteriormente. Porém, posicionado no interior de tubos de policloreto de vinila (Tigre SA, Joinville, SC, Brasil) com medida circunferencial com 25mm de diâmetro interno por 2cm de altura (figuras 27 e 28). Condição essa adotada para manter o paralelismo ideal entre a periferia do tubo e a superfície exposta da amostra.

Figura 27 - Preparo do embutimento alternativo sobre tubo de policloreto de vinila



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28 - Amostra com embutimento alternativo confeccionado



Fonte: Elaborado pelo autor.

Finalizado o embutimento, as amostras foram preparadas com lixas 600 e 800 já mencionadas, seguido do posterior preparo adesivo para ambos os grupos. Posicionou-se 3 moldes de silicone na superfície oclusal exposta, contendo aproximadamente 1.7mm de diâmetro interno confirmado por paquímetro digital (Mitutoyo, Suzano, SP, Brasil). Esses moldes foram fixados com cera de enceramento (Kota Imp, Cotia, SP, Brasil) levado por gotejador aquecido (figura 29). Confirmado a estabilização dos moldes sobre a superfície do dente, inseriu-se cimento resinoso fotoativado (Multilink Speed, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein, Alemanha) no interior do molde, seguido da fotoativação pelo tempo descrito pelo fabricante (figura 30).

Figura 29 - Simulação unitária do posicionamento do molde de silicone



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 30 - Preenchimento do molde com cimento resinoso fotoativado



Fonte: Elaborado pelo autor.

Confeccionados todos os cilindros, removeu-se a cera e os moldes siliconados com lâmina de bisturi. Em seguida mergulhou-se as amostras em recipiente contendo água deionizada. Os espécimes foram colocados em estufa a 37°C para total conversão da polimerização por 48h (figuras 31 e 32).

Figura 31 - Confeção do cilindro de cimento resinoso fotoativado



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 32 - Mensuração do diâmetro interno confirmado por paquímetro de precisão



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o ensaio de MC na máquina de ensaios universal (EMIC DL-1000, Equipamentos e Sistemas Ltda., São José dos Pinhais, PR, Brasil) utilizou-se célula de carga de 50 KgF. Os espécimes foram posicionados no interior da peça, adaptando-o junto ao fio ortodôntico 0.20mm confirmado pela mensuração em paquímetro para a realização do teste (figura 33). No momento da fratura, o ensaio foi interrompido automaticamente. A partir do teste foi calculada a resistência de união em megapascal (MPa), por meio de fórmula matemática: **Tensão (T) = Força (N) / π (Raio do cilindro (r))²**.

Figura 33 - Ensaio de resistência de união, simulando adaptação do fio ortodôntico ao cilindro



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores referentes à resistência de união foram coletados e tabelados para a realização da análise estatística convertidos em Mpa. Os cilindros fraturados após a realização do teste de MC foram analisados em estereomicroscópio X20 (Stemi 2000 – Karl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen, Alemanha) para identificação do tipo de fratura (figuras 34 e 35). Seguindo-se o padrão de fratura: Coesiva do material - predominantemente ($\geq 75\%$) no interior do cimento resinoso; Coesiva em dentina - predominantemente ($\geq 75\%$) no interior da dentina; Adesiva - interface adesivo/dentina ou na interface adesivo / resina composta, em mais de 75% da área analisada; Mista - Fraturas sem predominância maior que 75% de qualquer tipo de falha.

Figura 34 - Fratura mista observada em estereomicroscópio



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 35 - Fratura adesiva observada em estereomicroscópio



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após a identificação do tipo de fratura, foram registradas as fraturas conforme seus respectivos grupos. Em seguida, desprezou-se os dados resultantes de fraturas coesivas em dentina ou do material, e de espécimes que apresentaram falhas pré-teste. Apenas os dados das fraturas adesivas e mistas foram utilizados para a análise estatística.

4.3.4 Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os dentes foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo utilizando o mesmo disco duplo diamantado já citado, de tal ponto que resultou em 2 porções de dentina. Em seguida, realizou-se o protocolo dos grupos seguindo a metodologia descrita no preparo dos grupos G1 e G2. Após a finalização do protocolo adesivo, realizou-se a restauração com resina composta (Filtek Z250, 3M, Minnesota, EUA) fotoativada no tempo indicado pelo fabricante.

Para observação, cada espécime obteve sua interface polida com discos de lixas d'água de granulação 1200 e 2500 (Extec Corp., Enfield, CT, EUA), em politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), sob refrigeração. Logo após, os espécimes receberam condicionamento com ácido fosfórico 35% sem sílica (Ataque Gel, Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil) durante 10s e lavados com água durante 15s. A promoção dessa etapa visa a remoção de possíveis bactérias e detritos, facilitando a visualização da interface.

Os espécimes foram mantidos em microtubos (Eppendorf, São Paulo, SP, Brasil) com esferas de sílica por 15 dias dentro da campanula para desidratação (figura 36). Posteriormente, a data relatada removeu-se as amostras da campanula e fixou-se em *stub* de alumínio parcialmente coberto com fita dupla face, contendo a superfície a ser analisada voltada a extremidade livre. Em seguida, metalizados e observados em MEV (JMS 5310 Jeol, Tóquio, Japão), empregando aumento ilustrado nas imagens, considerando a interface adesiva (figura 37). O *stub* foi colocada dentro da câmara de vácuo do equipamento, na posição desejada. Realizou-se o vácuo para início das análises utilizando: detector de elétrons secundário ETD para morfologia da amostra; e detector de elétrons retroespalhado BSED responsável pela avaliação dos diferentes tons de cinza conforme o número atômico do material, ou seja, quanto mais opaco maior o valor atômico, quanto mais escuro menor o seu valor.

Figura 36 - Simulação dos espécimes na campanula durante a desidratação



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 37 - Metalização do espécime para análise em MEV



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Análise estatística

Nesse estudo utilizou-se análise de variância (ANOVA) com 1 fator. O fator em questão está relacionado ao tratamento na presença ou ausência de *laser* no aspecto imediato. Além disso, adicionou-se análise inferencial pelo teste T de Student e Qui Quadrado de Pearson para amostras independentes referente ao MC, e o teste de múltiplas comparações de Tukey com nível de significância 5% para a AT.

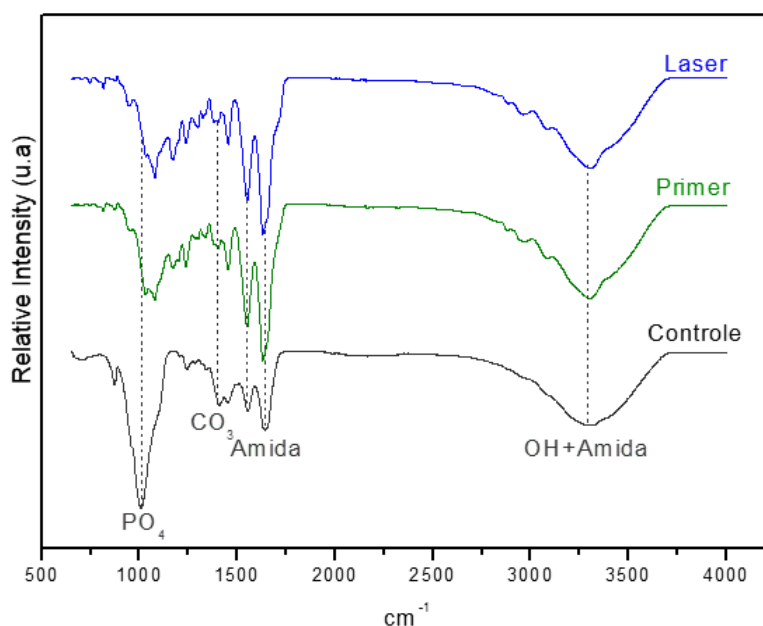
5 RESULTADOS

Os testes seguiram fidelidade nas etapas de preparo de cada espécime. Após a realização dos testes, foram obtidos resultados abaixo mencionados. No contexto geral, os dados coletados em comparação dos 2 grupos, não se pode constatar diferença estatisticamente significativa.

5.1 Espectroscopia de infravermelho de transformada de Fourier - FTIR

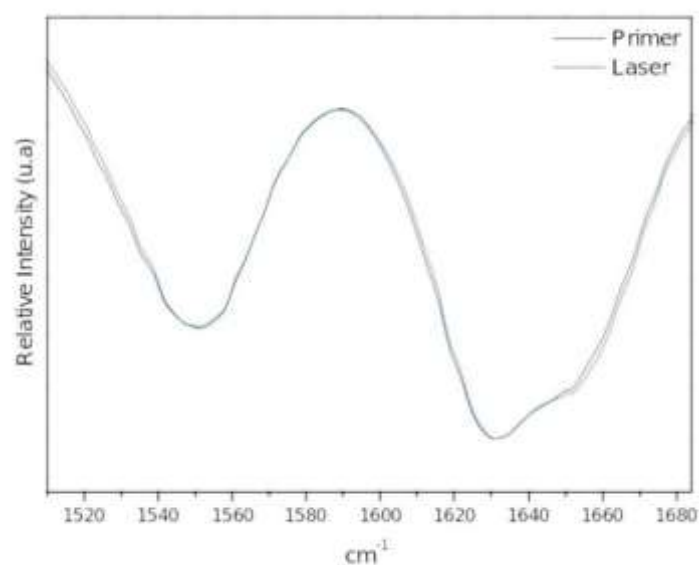
Inicialmente os resultados foram sobrepostos a fim de evidenciar possíveis diferenças no intervalo das bandas, não apresentando essa característica. No gráfico pode-se destacar os 3 espectros qualitativos correspondentes aos processos, evidenciando 4 bandas principais: 1100, correspondente ao fosfato da hidroxiapatita; 1400, relacionado ao carbonato de cálcio; 1600, demonstrando 2 bandas de amida I e II; 3400 com larga banda voltada ao OH e a amida (figuras 38, 39 e 40).

Figura 38 – Gráfico das disposições dos 3 parâmetros



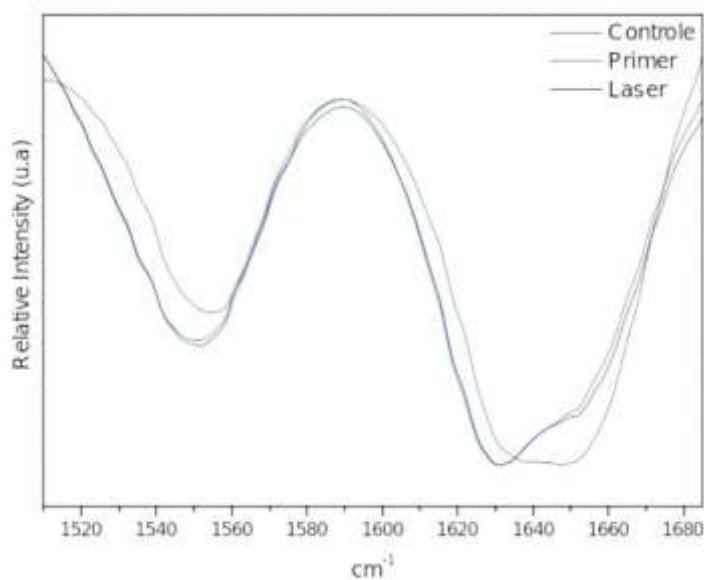
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 39 – Gráfico de sobreposição dos momentos *primer* e *laser*



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 40 – Gráfico de sobreposição dos momentos dentina, *primer* e *laser*



Fonte: Elaborado pelo autor.

No decorrer do processo de preparo do substrato observou-se redução nas intensidades das bandas de fosfato e carbonato, não só no *primer*, como também após a irradiação com *laser Nd:YAG*, mostrando que esse processo resulta na

esperada desmineralização da dentina após o condicionamento com ácido fosfórico. Porém essa desmineralização não demonstra degradação as fibras colágenas visto que as bandas de amida I e II não apresentaram diferença estatística durante as etapas de *primer* e *laser*. Além disso, na região de OH e amida, ocorre alteração no formato das bandas 3400 que pode ser causado pelo preparo do substrato após o condicionamento ácido seguido da aplicação do *primer*. Essa condição pode criar novos grupos com OH graças a hidrólise ácida.

5.2 Análise de textura - AT

Nas medidas descritivas em relação aos parâmetros: *AngScMom*; e *InvDfMom* por grupo através do $p > 0,05$ observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os momentos em todas as direções (tabelas 1 e 2). Porém, é perceptível que existe uma tendência de forma geral do aumento do valor médio destes parâmetros de textura entre dentina, *primer* e *laser*, apresentando este último de forma geral os maiores valores progressivamente. Além disso, fica evidente nas representações gráficas essa característica nos valores obtidos em *boxplot*, evidenciando a média ao centro em relação a linha voltada a porção inferior do retangular, representando o 1º quartil e o 3º quartil na linha acima da barra referente a porção superior do retângulo (figuras 41 e 42).

Nos parâmetros: *Contrast*; *Correlat*; *SumOfSqs*; *SumEntrp*; e *Entropy* por grupo através do $p > 0,05$, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os momentos em todas as direções (tabelas 3, 4, 5, 6 e 7). Porém, pode-se constatar que em relação a estes 5 parâmetros de textura existe uma tendência de diminuição do valor médio deste parâmetro à medida que chega no momento da irradiação, onde o *laser* apresenta de forma geral os menores valores em comparação ao controle. Na representação gráfica em *boxplot*, evidencia-se a média ao centro em relação a linha voltada a porção inferior do retangular, representando o 1º quartil e o 3º quartil na linha acima da barra referente a porção superior do retângulo, demonstrando leve queda na fase final (figuras 43, 44, 45, 46 e 47).

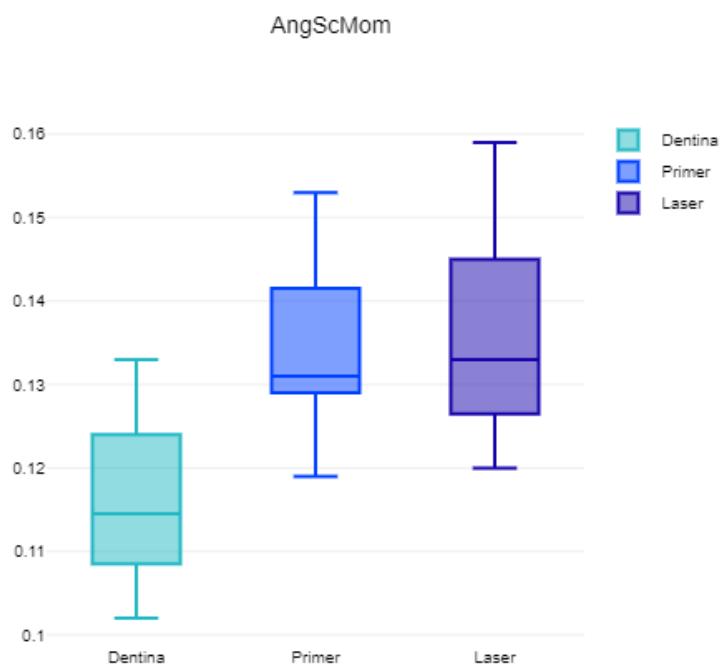
Tabela 1 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente ao momento angular secundário na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	<i>p</i> *
AngScMom(1,0)	0.124 ± 0.048	0.151 ± 0.084	0.153 ± 0.056	0.277
AngScMom(0,1)	0.133 ± 0.0590	0.143 ± 0.0788	0.148 ± 0.0489	0.715
AngScMom(1,1)	0.113 ± 0.0516	0.130 ± 0.0730	0.127 ± 0.0469	0.558
AngScMom(1,-1)	0.111 ± 0.0457	0.128 ± 0.0733	0.134 ± 0.0460	0.385
AngScMom(2,0)	0.106 ± 0.0418	0.130 ± 0.0727	0.128 ± 0.0446	0.324
AngScMom(0,2)	0.116 ± 0.0533	0.130 ± 0.0750	0.126 ± 0.0435	0.721
AngScMom(2,2)	0.105 ± 0.0420	0.119 ± 0.0594	0.120 ± 0.0420	0.490
AngScMom(2,-2)	0.102 ± 0.0407	0.125 ± 0.0711	0.122 ± 0.0413	0.315
AngScMom(3,0)	0.112 ± 0.0410	0.137 ± 0.0748	0.136 ± 0.0474	0.265
AngScMom(0,3)	0.124 ± 0.0549	0.132 ± 0.0719	0.132 ± 0.0435	0.882
AngScMom(3,3)	0.124 ± 0.0392	0.140 ± 0.0629	0.159 ± 0.0533	0.115
AngScMom(3,-3)	0.132 ± 0.0407	0.153 ± 0.0698	0.142 ± 0.0476	0.433

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 41 - Boxplot das médias em relação aos quartis do AngScMom



Fonte: Elaborado pelo autor.

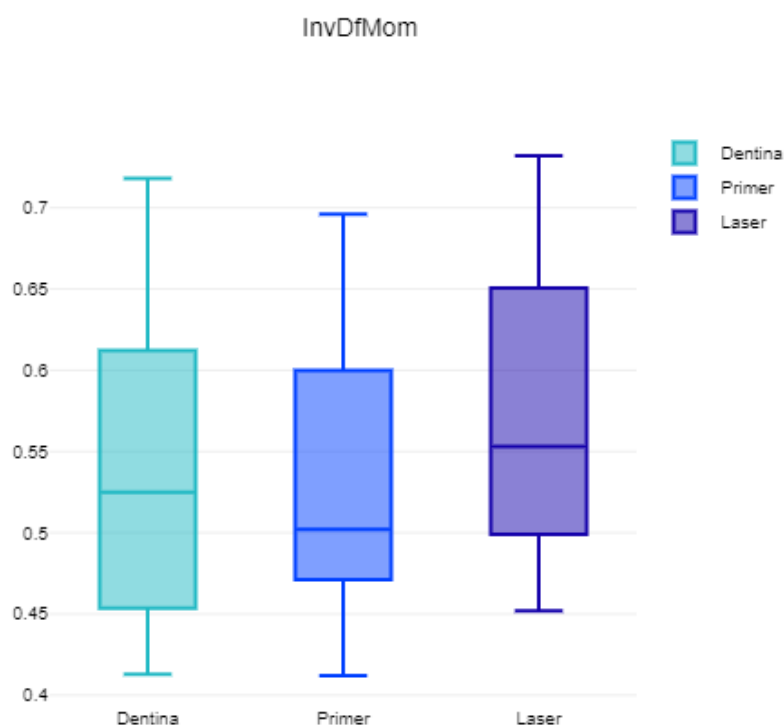
Tabela 2 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente ao momento da diferença inversa na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	<i>p</i> *
InvDfMom(1,0)	0.685 ± 0.072	0.696 ± 0.128	0.732 ± 0.094	0.232
InvDfMom(0,1)	0.718 ± 0.108	0.687 ± 0.126	0.722 ± 0.084	0.445
InvDfMom(1,1)	0.610 ± 0.095	0.626 ± 0.119	0.646 ± 0.085	0.428
InvDfMom(1,-1)	0.614 ± 0.079	0.613 ± 0.123	0.655 ± 0.086	0.242
InvDfMom(2,0)	0.538 ± 0.086	0.560 ± 0.153	0.596 ± 0.107	0.276
InvDfMom(0,2)	0.570 ± 0.130	0.555 ± 0.145	0.576 ± 0.107	0.849
InvDfMom(2,2)	0.455 ± 0.105	0.490 ± 0.138	0.507 ± 0.103	0.328
InvDfMom(2,-2)	0.473 ± 0.083	0.465 ± 0.164	0.516 ± 0.097	0.425
InvDfMom(3,0)	0.449 ± 0.098	0.491 ± 0.166	0.530 ± 0.122	0.150
InvDfMom(0,3)	0.512 ± 0.137	0.502 ± 0.159	0.491 ± 0.128	0.908
InvDfMom(3,3)	0.452 ± 0.213	0.460 ± 0.146	0.452 ± 0.110	0.986
InvDfMom(3,-3)	0.413 ± 0.128	0.412 ± 0.204	0.455 ± 0.153	0.668

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 42 - Boxplot das médias em relação aos quartis do *InvDfMom*



Fonte: Elaborado pelo autor.

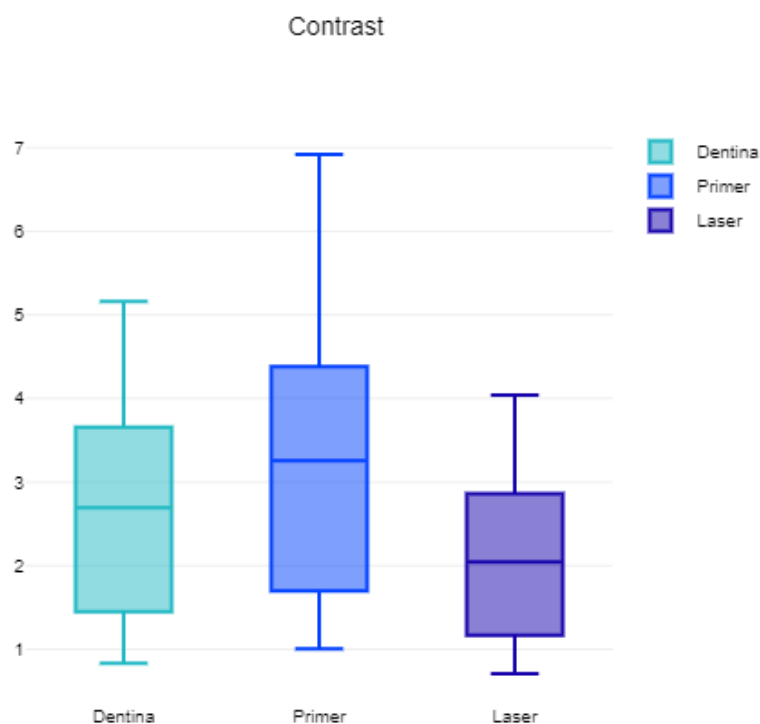
Tabela 3 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente ao contraste na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	<i>p</i> *
Contrast(1,0)	0.896 ± 0.399	1.004 ± 0.802	0.707 ± 0.486	0.150
Contrast(0,1)	0.833 ± 0.540	1.047 ± 1.029	0.731 ± 0.420	0.322
Contrast(1,1)	1.50 ± 0.731	1.69 ± 1.573	1.22 ± 0.828	0.342
Contrast(1,-1)	1.40 ± 0.627	1.71 ± 1.308	1.12 ± 0.659	0.080
Contrast(2,0)	2.24 ± 1.14	2.67 ± 2.35	1.63 ± 1.10	0.099
Contrast(0,2)	2.11 ± 1.72	2.69 ± 3.51	1.87 ± 1.28	0.520
Contrast(2,2)	3.70 ± 2.31	3.82 ± 3.98	2.77 ± 1.81	0.437
Contrast(2,-2)	3.23 ± 1.58	4.36 ± 4.21	2.65 ± 1.58	0.130
Contrast(3,0)	3.61 ± 2.30	3.95 ± 4.28	2.22 ± 1.28	0.134
Contrast(0,3)	3.15 ± 3.07	4.40 ± 7.11	2.95 ± 2.12	0.580
Contrast(3,3)	5.16 ± 4.56	5.11 ± 6.83	3.36 ± 1.83	0.469
Contrast(3,-3)	4.40 ± 2.71	6.92 ± 8.80	4.04 ± 2.92	0.247

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 43 - *Boxplot* das médias em relação aos quartis do *Contrast*



Fonte: Elaborado pelo autor.

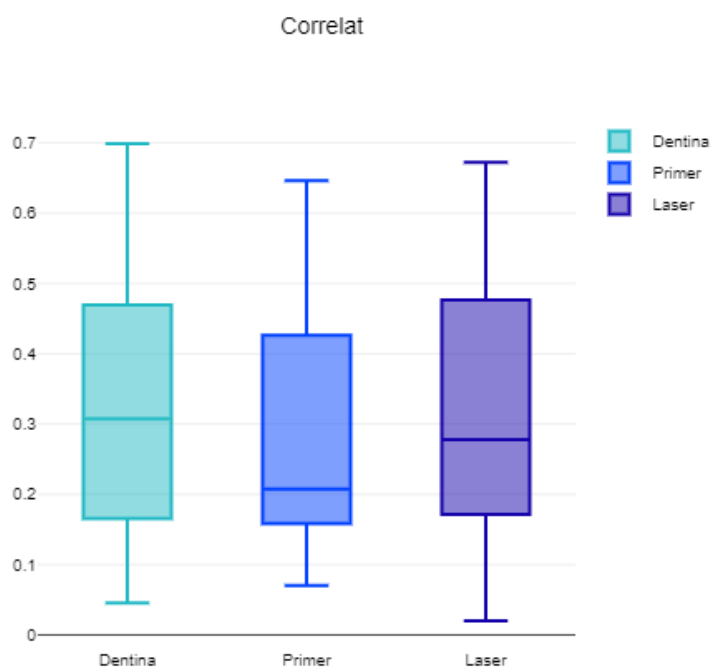
Tabela 4 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente a correlação na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	<i>p</i> *
Correlat(1,0)	0.649 ± 0.133	0.646 ± 0.168	0.672 ± 0.136	0.840
Correlat(0,1)	0.699 ± 0.121	0.619 ± 0.172	0.656 ± 0.119	0.245
Correlat(1,1)	0.450 ± 0.163	0.433 ± 0.222	0.466 ± 0.190	0.883
Correlat(1,-1)	0.489 ± 0.148	0.419 ± 0.225	0.487 ± 0.134	0.265
Correlat(2,0)	0.184 ± 0.245	0.181 ± 0.308	0.260 ± 0.290	0.652
Correlat(0,2)	0.286 ± 0.268	0.180 ± 0.300	0.187 ± 0.242	0.447
Correlat(2,2)	0.1473 ± 0.231	0.0702 ± 0.310	0.1555 ± 0.313	0.680
Correlat(2,-2)	0.0601 ± 0.252	0.1639 ± 0.217	0.0934 ± 0.299	0.418
Correlat(3,0)	0.1953 ± 0.299	0.1532 ± 0.290	0.0199 ± 0.340	0.299
Correlat(0,3)	0.0454 ± 0.368	0.1060 ± 0.346	0.1944 ± 0.341	0.465
Correlat(3,3)	0.329 ± 0.332	0.234 ± 0.347	0.449 ± 0.264	0.257
Correlat(3,-3)	0.337 ± 0.244	0.411 ± 0.266	0.296 ± 0.386	0.554

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 44 - *Boxplot* das médias em relação aos quartis do *Correlat*



Fonte: Elaborado pelo autor.

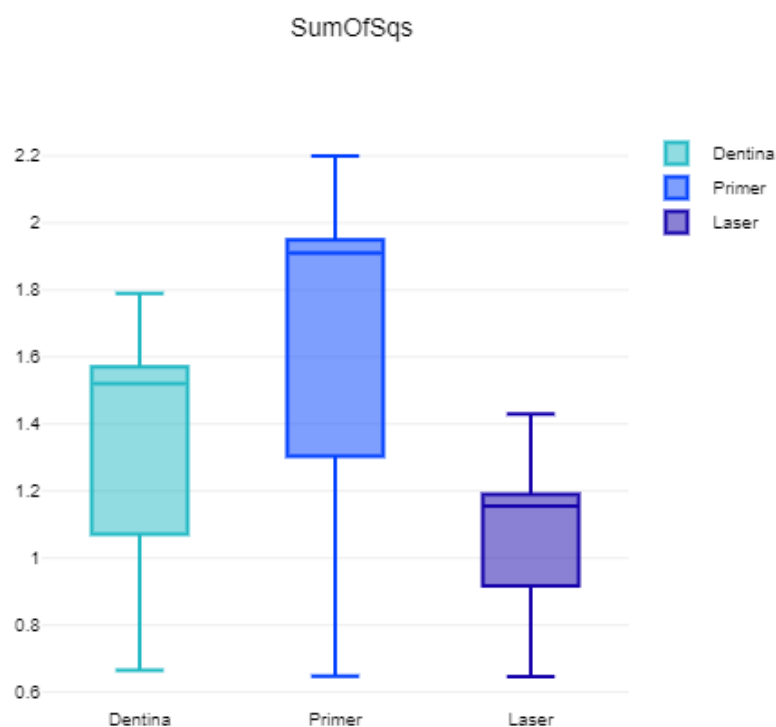
Tabela 5 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente a Soma dos quadrados na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	<i>p</i> *
SumOfSqs(1,0)	1.53 ± 0.84	1.92 ± 2.24	1.18 ± 0.58	0.30
SumOfSqs(0,1)	1.56 ± 0.85	1.90 ± 2.18	1.16 ± 0.55	0.28
SumOfSqs(1,1)	1.51 ± 0.82	1.93 ± 2.24	1.20 ± 0.58	0.31
SumOfSqs(1,-1)	1.56 ± 0.90	1.90 ± 2.24	1.15 ± 0.56	0.29
SumOfSqs(2,0)	1.51 ± 0.83	1.87 ± 2.16	1.14 ± 0.54	0.28
SumOfSqs(0,2)	0.763 ± 0.083	0.738 ± 0.164	0.713 ± 0.092	0.401
SumOfSqs(2,2)	0.692 ± 0.097	0.694 ± 0.159	0.650 ± 0.110	0.413
SumOfSqs(2,-2)	1.58 ± 0.83	1.96 ± 2.27	1.20 ± 0.58	0.27
SumOfSqs(3,0)	0.665 ± 0.114	0.648 ± 0.152	0.646 ± 0.097	0.861
SumOfSqs(0,3)	1.38 ± 0.85	1.94 ± 2.42	1.17 ± 0.63	0.30
SumOfSqs(3,3)	1.79 ± 1.22	2.00 ± 2.40	1.12 ± 0.54	0.22
SumOfSqs(3,-3)	1.59 ± 0.83	2.20 ± 2.66	1.43 ± 0.81	0.34

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 45 - *Boxplot* das médias em relação aos quartis do *SumOfSqs*



Fonte: Elaborado pelo autor.

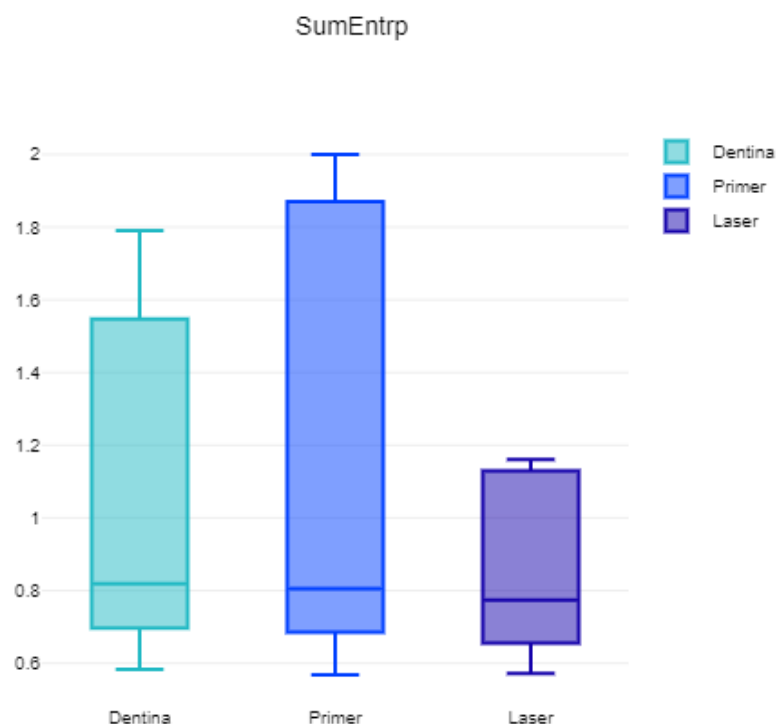
Tabela 6 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente a Soma da entropia na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	<i>p</i> *
SumEntrp(1,0)	4.983 ± 16.1609	0.818 ± 0.1698	0.778 ± 0.0950	0.377
SumEntrp(0,1)	1.56 ± 0.851	1.90 ± 2.178	1.16 ± 0.545	0.280
SumEntrp(1,1)	0.809 ± 0.1034	0.793 ± 0.1667	0.771 ± 0.0901	0.606
SumEntrp(1,-1)	0.819 ± 0.1083	0.792 ± 0.1725	0.764 ± 0.0994	0.354
SumEntrp(2,0)	1.51 ± 0.834	1.87 ± 2.159	1.14 ± 0.538	0.284
SumEntrp(0,2)	1.48 ± 0.825	1.87 ± 2.175	1.15 ± 0.571	0.300
SumEntrp(2,2)	0.692 ± 0.0966	0.694 ± 0.1592	0.650 ± 0.1097	0.413
SumEntrp(2,-2)	0.711 ± 0.1077	0.677 ± 0.1644	0.662 ± 0.0986	0.361
SumEntrp(3,0)	1.56 ± 0.889	1.79 ± 2.052	1.08 ± 0.475	0.268
SumEntrp(0,3)	0.659 ± 0.0857	0.667 ± 0.1576	0.623 ± 0.0891	0.460
SumEntrp(3,3)	1.79 ± 1.218	2.00 ± 2.396	1.12 ± 0.542	0.224
SumEntrp(3,-3)	0.583 ± 0.0885	0.568 ± 0.1275	0.572 ± 0.1201	0.909

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 46 - Boxplot das médias em relação aos quartis do SumEntrp



Fonte: Elaborado pelo autor.

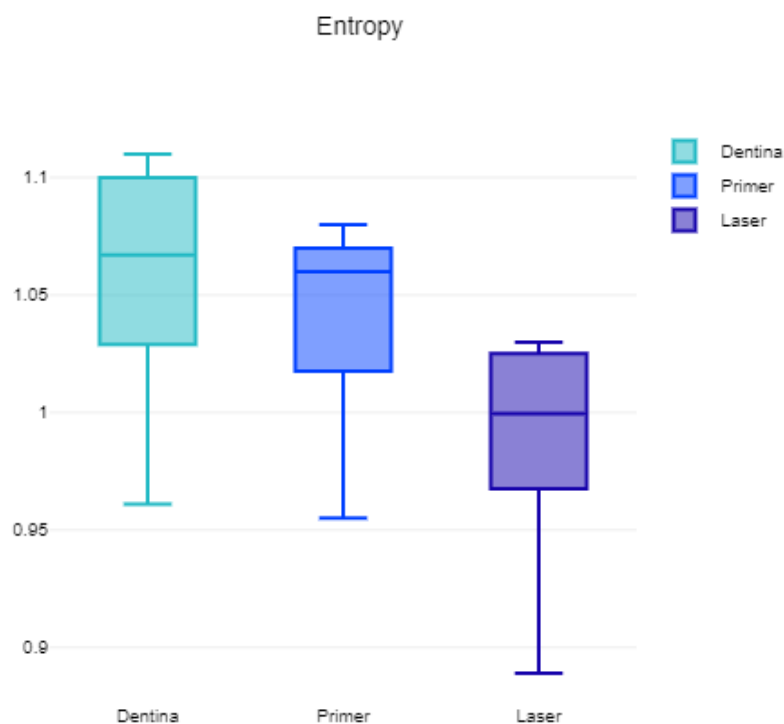
Tabela 7 - Resultados de forma comparativa do parâmetro referente da entropia na textura dos 3 diferentes momentos

	Dentina	Primer	Laser	p^*
Entropy(1,0)	1.050 ± 0.129	1.017 ± 0.250	0.963 ± 0.148	0.255
Entropy(0,1)	1.034 ± 0.161	1.019 ± 0.226	0.972 ± 0.147	0.423
Entropy(1,1)	1.11 ± 0.156	1.07 ± 0.241	1.03 ± 0.154	0.359
Entropy(1,-1)	1.10 ± 0.154	1.08 ± 0.238	1.01 ± 0.153	0.216
Entropy(2,0)	1.10 ± 0.134	1.07 ± 0.240	1.02 ± 0.133	0.268
Entropy(0,2)	1.08 ± 0.160	1.06 ± 0.228	1.03 ± 0.145	0.610
Entropy(2,2)	1.09 ± 0.137	1.06 ± 0.208	1.03 ± 0.138	0.390
Entropy(2,-2)	1.10 ± 0.137	1.07 ± 0.228	1.02 ± 0.143	0.285
Entropy(3,0)	1.054 ± 0.141	1.009 ± 0.224	0.974 ± 0.132	0.286
Entropy(0,3)	1.024 ± 0.148	1.026 ± 0.222	0.989 ± 0.134	0.718
Entropy(3,3)	0.980 ± 0.115	0.955 ± 0.175	0.889 ± 0.141	0.090
Entropy(3,-3)	0.961 ± 0.111	0.922 ± 0.185	0.934 ± 0.128	0.623

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 47 - Boxplot das médias em relação aos quartis do Entropy



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Microcissalhamento - MC

Nos resultados em relação a resistência de união utilizando o MC para o aspecto imediata através da análise inferencial do teste t, o G2 apresentou alteração de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Apesar de possuir essa diferença, o valor de p foi confirmado pelo teste de Mann-Whitney evidenciando resultado estatístico maior de 5%, constatando que não ocorreu diferença significativa entre os grupos (tabela 8).

Tabela 8 - Resultados estatísticos da análise inferencial pelo teste T para amostras independentes, confirmado pelo teste de U de Mann-Whitney

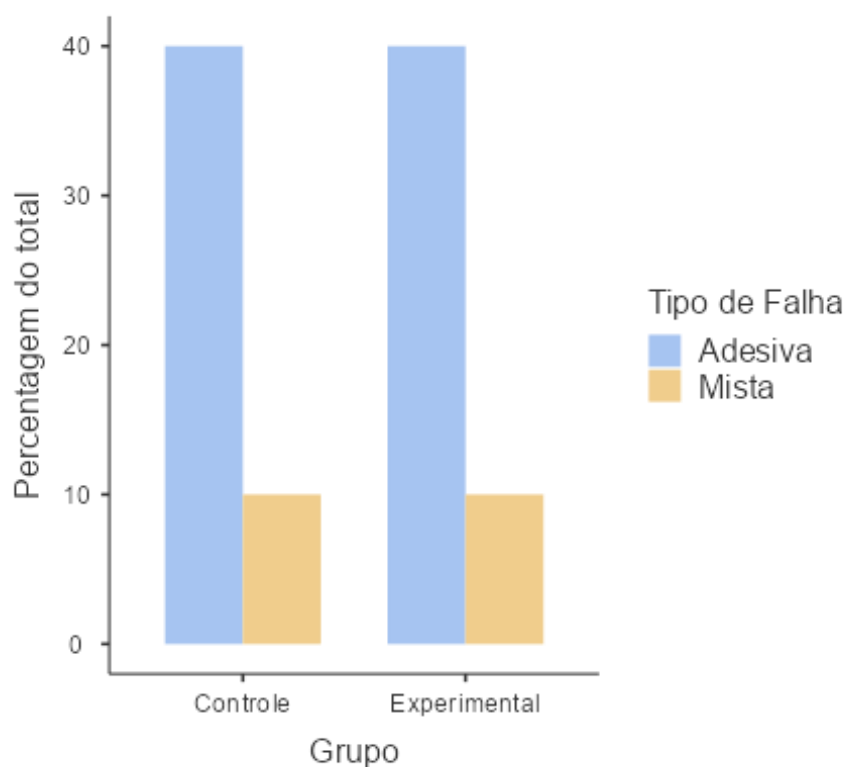
	Tratamento	N	Mediana	Shapiro-Wilk		Percentis		Mann-Whitney
				W	p	25th	75th	p^*
Microcissalhamento	Controle	10	35.8	0.881	0.133	35.3	37.5	0.052
	Experimental	10	34.7	0.708	0.001	34.1	35.2	

*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

No teste de frequência para associação dos tipos de fraturas encontradas confirmadas em estereomicroscópio, observa-se de forma geral, fraturas predominantemente adesivas, além de mistas (figura 48). Neste estudo não foram constatadas fraturas coesivas. De acordo com o resultado gerando pelo valor de p em complemento a tabela anterior, é reforçado a ausência de diferença significativa entre os grupos (tabela 9).

Figura 48 – Gráfico de distribuição dos tipos de falha em relação aos resultados do MC



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabelas 9 - Resultados de contingência do teste de frequência para associação Qui Quadrado referente a dados independentes a partir da análise do tipo de fratura em relação aos grupos

Grupo	Tipo de Falha		Total	p*
	Adesiva	Mista		
Controle	12	3	15	1.000
Experimental	12	3	15	
Total	24	6	30	

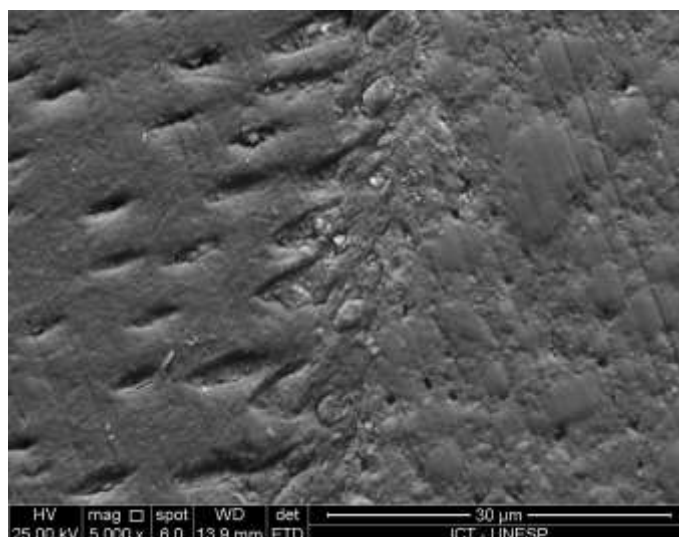
*diferenças estatisticamente significantes ($p < 5\%$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 Microscopia eletrônica de varredura - MEV

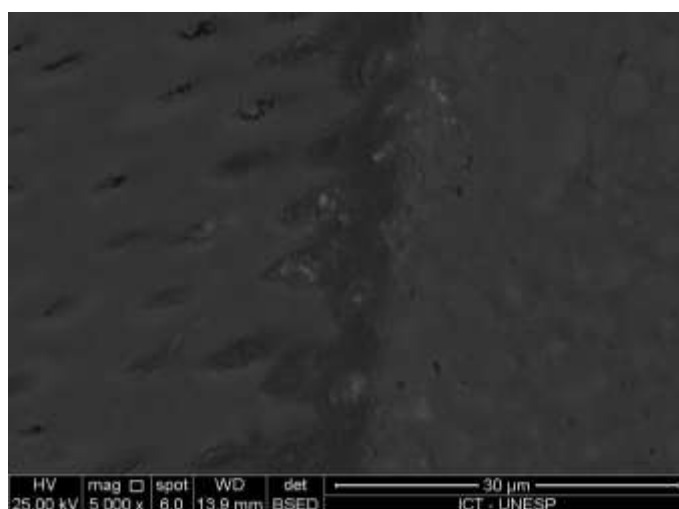
A partir das imagens supracitadas do MEV utilizando aumento de 5.000x colidas pelos detectores ETD e BSED pode-se evidenciar sugestiva diferenciação entre os grupos. A formação dos *tags* não foi tão notável. Porém, observa-se que no G2 os túbulos dentinários estão maiores em comparação ao G1, permitindo a maior penetração do material adesivo entre os túbulos (figuras 49, 50, 51 e 51).

Figura 49 - Aspecto microscópico do grupo controle com aumento em 5000X em ETD



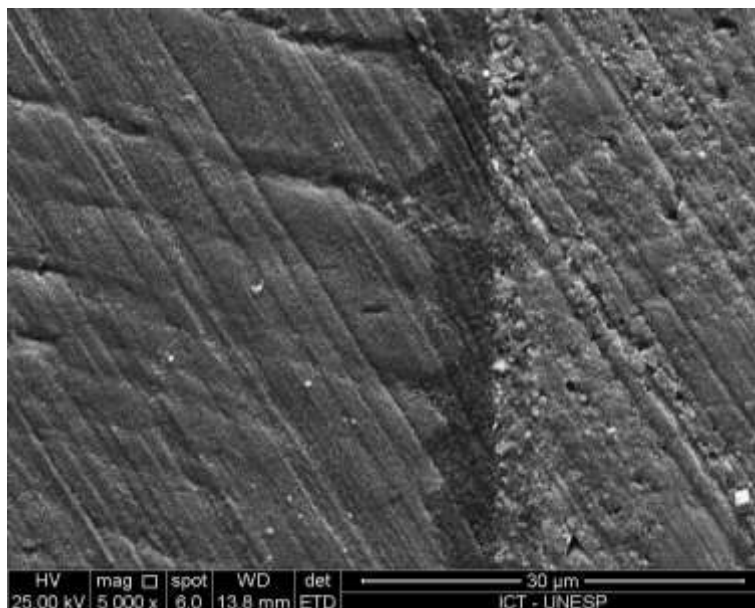
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 50 - Aspecto microscópico do grupo controle com aumento em 5000X em BSED



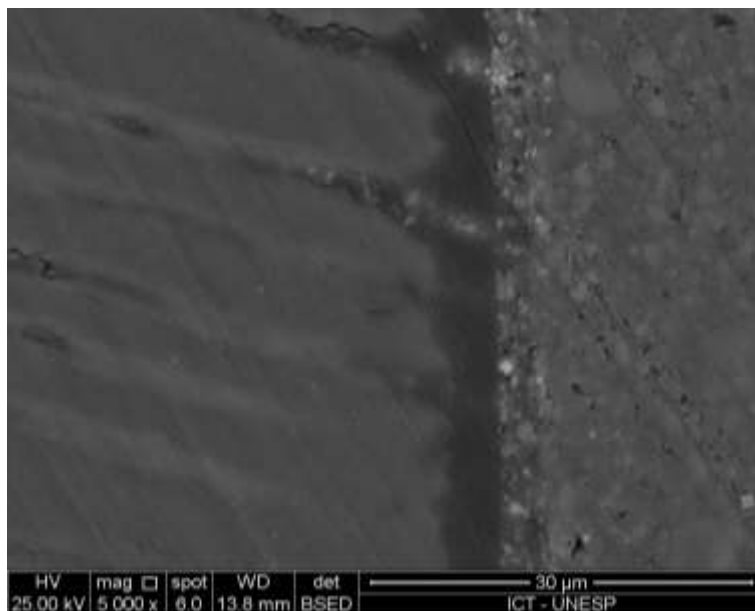
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 51 - Aspecto microscópico do grupo experimental com aumento em 5000X em EDT



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 52 - Aspecto microscópico do grupo experimental com aumento em 5000X em BSED



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

A dentina continua representando o substrato mais desafiador para o estabelecimento e efetiva união aos materiais restauradores (Fusayama et al., 1979; Nawareg et al., 2015). A eficácia dos sistemas adesivos é frequentemente verificada em testes laboratoriais e/ou clínicos imediatos/longitudinais (Spencer et al., 2014; Memarpour et al., 2018; Ramié et al., 2020). Estudos relacionados a este tecido apresentam relevância considerável, pois representa a preservação das estruturas dentais, pensando em possíveis fatores clínicos como evitar trocas excessivas de restaurações (Demarco et al., 2017; Da Rosa Rodolpho et al., 2022). No entanto, quando se trata de uma nova técnica, estudos de resultados imediatos são extremamente válidos e necessários, visando reduzir os custos de pesquisas para casos em que a nova abordagem não se mostrar efetiva ou mesmo mostrar resultados inferiores de imediato.

A implementação da técnica a *laser* no protocolo restaurador idealizado por Gonçalves et al. (1999), viabilizou a possibilidade da implementação deste artifício, melhorando de forma imediata os resultados de resistência de união a substratos dentinários sadios, hipo e hipermineralizados, mas, utilizando um protótipo de *laser* de *Yttrium-Lítium-flúor* (Nd:YLF). Na atualidade, o equipamento passou por modificações dando origem ao que conhecemos como o *Nd:YAG*, que possui características bem distintas, com fibras óticas de dimensões muito inferiores, variando entre 200, 320 e 400 micrometros (μm). Neste contexto, existe um paralelo quanto as distâncias sobre o objeto a ser irradiado, pois no estudo de Gonçalves et al. (1999) foi utilizado a distância 10 metros do espécime. Por outro lado, nesse estudo a distância foi alterada para 13mm da fibra ótica em relação à superfície.

Franke et al. (2006) ressaltam que a energia necessária para induzir o aquecimento melhorando os resultados de resistência de união e aumentando a penetração do adesivo é de 5 J/cm^2 , bem próxima ao sugerido por Gonçalves et al. (1999) que foi de $3,51 \text{ J/cm}^2$. Durante os cálculos realizados para estabelecer o parâmetro ideal, a energia necessária precisava entregar de 3 a 5 J/cm^2 motivo esse que justifica a diminuição do tempo de 66s para 60s de irradiação. A alteração morfológica promovida pelo aquecimento da região alvo pode originar consequências,

visto que, a irradiação com *Nd:YAG* atua no derretimento da superfície de dentina em decorrência do contato da fibra que em altas potências eleva temperatura e torna a sua aplicação inviável para dentes com vitalidade pulpar (Bolortuya et al., 2012). Segundo Marimoto et al. (2013) esse *laser* promove a desnaturação dos componentes orgânicos da dentina através da geração de calor, obliterando os túbulos dentinários ao mesmo tempo em que propicia a formação de numerosos *tags* pela maior penetração do adesivo aquecido no processo.

A possibilidade de afastar a ponta da fibra atingindo maior área é uma opção viável pensando na preservação da vitalidade pulpar como foi estabelecido na metodologia descrita neste trabalho. Porém, necessitando de mais estudos visando estabelecer um protocolo que produza resultados semelhantes aos encontrados por exemplo em Gonçalves et al. (1999) e Barcellos et al. (2015). Para Santis et al. (2016) o aumento da temperatura *in vivo* pode ser reduzido pela presença de estruturas adjacentes como o periodonto intacto e a cortical óssea, além do contínuo fluxo sanguíneo atuando como agente de dissipação do calor. Por outro lado, Silva et al. (2016) afirmam que temperaturas acima de 5,5°C provocam necrose pulpar, sugerindo que a irradiação não exceda 5°C, onde os parâmetros para a dentina deveriam estar entre 60 e 100 mJ, valor esse utilizado como um dos parâmetros de escolha a partir de estudo piloto comparando a resposta da dentina durante as etapas no FTIR.

O uso do *Nd:YAG* após a aplicação do sistema adesivo pode ser uma forma atraente de se obter maior força de ligação (Franke et al., 2006; Marimoto et al., 2013). Todavia, como relatado na metodologia desta pesquisa, optou-se pela aplicação do *laser* sobre o *primer*. Ao se utilizar o *laser* sobre o *primer* e/ou sobre o *bond*, pode-se evidenciar o aumento do grau de evaporação do solvente e conseqüentemente a melhora do poder de penetração do adesivo à dentina (Barcellos et al., 2015).

Como observado nos resultados imediatos em FTIR, um componente líquido presente no ácido fosfórico e no *primer* promoveu aumento na banda de amida II identificada no gráfico 1, ou seja, a dentina se comportou como uma esponja na retenção desses fluidos. Após a utilização do *laser* ocorreu a evaporação do excesso de água. No entanto, o *laser* neste parâmetro e neste modo de aplicação não induziu a desnaturação das proteínas envolvidas, fato comprovado pela ausência de degradação do carbonato na banda de 1400. Apesar de ser observada essa

característica, estatisticamente o *laser* não alterou o conteúdo químico do substrato, conforme sugerido na primeira hipótese de nulidade.

Essa condição vai em contraponto ao resultado obtido no estudo de Lopes et al. (2022), que utilizou a mesma técnica de não contato por 30s, porém, com varredura a 1mm de distância da superfície. Os resultados mostraram degradação das bandas de amida I e II pós *laser*, além da decomposição do carbonato de cálcio na banda de 1400 em óxido de cálcio. Vale ressaltar, que Lopes et al. (2022) aplicaram o *laser* diretamente sobre a dentina sem qualquer tratamento, pois a finalidade era a proteção do tecido contra desmineralização por cárie. Constatando que parâmetros e modos de aplicação influenciam os resultados da utilização *lasers*.

A AT em imagens de TCFC foi executada em diferentes momentos e ofereceu resultados ainda não observados na literatura. Os momentos destacados foram: controle sem qualquer tratamento; pré-tratamento com ácido fosfórico a 35%; aplicação de *primer*; e pós irradiação com *laser Nd:YAG*. A TCFC forneceu uma análise do comportamento estrutural no decorrer das fases da etapa restauradora, uma vez que esta técnica já foi utilizada em estudos para análise de microarquitetura e diferenciação dos tecidos orgânicos (Löfstedt et al., 2019; Gonçalves et al., 2020; Rosa et al., 2020; Nussi et al., 2022; Costa et al., 2023; Queiroz et al., 2023).

Entretanto, não revelou resultados estatisticamente significativos com relação à utilização da técnica a *laser* nos parâmetros utilizados no decorrer do tratamento adesivo, aceitando-se a segunda hipótese de nulidade. Vários estudos fazem uso desta técnica em imagens de TCFC com objetivos diversos, como: a avaliação qualitativa de tecido ósseo para implantes dentários, a diferenciação entre regiões acometidas e não acometidas por processos patológicos, bem como, marcadores para determinação de gênero e idade (Gonçalves et al., 2020; Costa et al., 2021; Nussi et al., 2023). No entanto, nenhum estudo foi encontrado na literatura sobre o uso desta técnica em imagens de TCFC como meio de análise de materiais odontológicos submetidos a diferentes processos de tratamento. Neste ponto, este estudo possui pioneirismo e originalidade.

As imagens em TCFC possuem a capacidade de fornecer cortes sequenciais sem sobreposições das estruturas, possibilitando um ensaio não destrutivo de corpos de prova, fornecendo por meio de variações dos tons de cinza informações preciosas de possíveis alterações nos mesmos (Nussi et al., 2023). Esta modalidade de imagens

fornece até 4.000 níveis de cinza diferentes, mas que muitas vezes apresentam limitações em sua análise uma vez que o olho humano apresenta capacidade de distinções de no máximo 60 tons de cinza (Haralick et al., 1973; Dhruv et al., 2019). Neste contexto, a técnica de AT apresenta-se como uma alternativa precisa e objetiva, possibilitando a avaliação estatística do comportamento dos valores de pixel das imagens, suscitando em comparações por meio de parâmetros distintos sobre o real comportamento dos corpos examinados e na identificação de sua composição estrutural.

Durante a AT, foram analisados 7 parâmetros, com a finalidade de estudar possíveis diferenças estatísticas entre 3 momentos: dentina controle; pré-tratamento; e pós *laser*. Uma vez que cada um dos parâmetros apresenta um significado próprio em relação à caracterização daquela imagem, sua compreensão pode evidenciar alterações estruturais entre os momentos. Pelos valores de p das tabelas de 1 a 7, pode-se observar que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os 3 momentos de estudo, quando se considerou cada um dos parâmetros de textura. Entretanto, é importante que sejam analisados os resultados, relativos a estes, de forma individual, para que os mesmos sejam avaliados de forma mais consistente.

Em relação ao parâmetro *AngScMom* informado na tabela 1, é observado uma tendência do *laser* apresentar maiores valores que os momentos *primer* e dentina controle, progressivamente. O *AngScMom* representa o número de tons de cinza da imagem, sendo inversamente proporcional, ou seja, maior seu valor, menor o número de tons de cinza, o que reflete uma imagem com maior uniformidade. De forma similar, pela Tabela 2, observa-se um comportamento semelhante em relação ao parâmetro de textura *InvDfMom*. Este parâmetro relaciona-se com uniformidade da imagem, sendo que quanto mais elevado for, mais uniforme está a distribuição dos tons de cinza referentes a aquele corpo (Haralick et al., 1973; Dhruv et al., 2019).

Por esses resultados, pode-se enfatizar que o *laser* tendeu a apresentar maior uniformidade que os demais, indicando uma distribuição harmônica podendo refletir em composição padronizada. De fato, nesse momento houve um tratamento que alterou a composição estrutural, reduzindo o teor hídrico, sinalizando que esta composição molecular contribuiu para este resultado. Nota-se que a dentina de forma geral, apresentou menores valores relacionados a esses 2 parâmetros, indicando sua

composição mais heterogênea.

Em relação ao parâmetro de textura *Contrast* na tabela 3 e gráfico 4 indicam um comportamento para o *laser* em apresentar globalmente os menores valores, seguido pelos demais grupos, observando-se que na dentina foram encontrados os maiores valores. Este parâmetro está ligado à presença de ruído na imagem, a análise de textura que resulta em altos valores de *Contrast*, indica maior grau de ruído, o qual pode ser fruto da redução do número de *fótons* de raios X no exame de TCFC, causado pelo aumento da espessura e densidade do objeto examinado (Gonçalves et al., 2020). Pelos resultados, indica-se desta forma, uma tendência do momento *laser* apresentar uniformidade e estrutura mais coesa comparativamente a dentina controle.

Os resultados associados ao parâmetro *Correlat* indicaram que o momento *laser* apresentou menores valores em comparação a dentina observado na tabela 4 e gráfico 5, indicando menor interdependência entre os *pixels* da imagem, o que implica em um tecido mais organizado, com menos variações internas, sem que uma região influenciasse em outra (Costa et al., 2021). Os valores para a *SumOfSqs* também foram menores no momento *laser*, traduzido menores dispersões das distribuições dos tons de cinza na imagem associada ao momento, reforçando sua uniformidade de composição (Dhruv et al., 2019).

De forma semelhante, os resultados relativos aos parâmetros de textura *Entropy* e *SumEntrp* respectivamente explanados nas tabelas 6 e 7 e gráficos 7 e 8, que são parâmetros complementares entre si, apresentaram menores valores relacionados ao *laser* e maiores para dentina. Estes parâmetros indicam uma desordem da distribuição dos níveis de cinza na imagem, quanto maiores forem seus valores, maior heterogeneidade de composição tecidual apresentará o corpo (Nussi et al., 2023). Após o tratamento com *laser* os resultados indicam uma composição mais uniforme, suscitando em imagens de maior harmonia em sua composição.

Entretanto, por ser um estudo inédito que avaliou corpos de prova por meio de imagens de TCFC, utilizando-se da AT, os resultados não podem ser diretamente comparados a outros estudos que tiveram objetivo simular. Porém, o significado de cada parâmetro de textura, é universal, traduzindo desta forma uma tendência ao comportamento mais padronizado do momento *laser* em relação aos demais. Neste ponto, a técnica de AT em imagens de TCFC surge como uma possível metodologia promissora para a finalidade de estudo complementar estrutural de corpos de prova,

viabilizando novos estudos com esse artifício.

Dentre os testes utilizados para avaliação laboratorial do comportamento de materiais encontra-se a resistência de união, podendo ser feita principalmente por MC e microtração (EL Mourad, 2018; Sano et al., 2020). Nesse estudo, optou-se por essa técnica de MC pelo amparo da literatura em consonância a critérios de padronização, pois os dentes podem conter acidentes anatômicos que inviabilizam a execução de métodos como a microtração devido a pouca espessura de remanescente em relação aos cornos pulpare. A quantidade de dentina remanescente nem sempre é registrada nos estudos de resistência de união e isso pode representar um fator de discrepância entre os resultados (Franke et al., 2006; Sano et al., 2020). Esse estudo padronizou o remanescente dentinário em 2mm e garantiu que o processo adesivo fosse executado em superfícies com características estruturais semelhantes, livres de ilhas de esmalte ou de excessiva proximidade pulpar.

O teste de MC empregado neste estudo não foi capaz de identificar uma diferença significativa entre os tratamentos empregados nos grupos controle e experimental com *laser*, o que do ponto de vista da aplicação de uma nova técnica, não representa um resultado insatisfatório. Avaliando em outros aspectos, pode-se interpretar como um resultado favorável no sentido de que não houve deterioração imediata da união adesiva. É importante salientar que até o momento, à exceção do trabalho de Gonçalves et al. 1999, todos os trabalhos que se utilizaram da metodologia de aplicação do *laser* sobre o adesivo não polimerizado, o fizeram pelo método com contato da fibra sobre o substrato (Marimoto et al., 2013; Silva et al., 2017; Santis et al., 2017). Nenhum trabalho pode ser utilizado como comparação direta, pois mesmo o idealizador da técnica utilizou de testes como o macrocislamento, além de ter usado dentina bovina e não humana como o estudo em questão.

Os valores de resistência obtidos foram expressivos como ressaltado na tabela 8, com média superior a 30 MPa, o que demonstra uma boa condição da metodologia proposta. Os resultados obtidos no MC, destacaram predominância na falha do tipo adesiva, outro fator importante que mostra o rigor metodológico, visto que foi reduzida a porcentagem de fraturas coesivas. Porém, constatou-se que o tratamento experimental com *laser* baseado no *p* valor, não influenciou de forma imediata os resultados de resistência de união em dentina, aceitando-se a terceira hipótese de nulidade.

Por outro lado, na MEV evidenciou características peculiares da técnica com o uso do *laser* sobre o *primer* do sistema adesivo. A partir das imagens das figuras com aumento de 5.000x colhidas pelos detectores ETD e BSED pode-se evidenciar sugestiva diferenciação entre os grupos. A formação dos *tags* não foi tão notável. Porém, observa-se que no G2 os túbulos dentinários estão maiores em comparação ao G1, permitindo a maior penetração do material adesivo entre os túbulos, rejeitando a quarta hipótese de nulidade.

A partir dos resultados do MEV, enfatiza-se a necessidade de estudos voltados ao poder de penetração do material sobre o substrato. Esse fator gera discussão sobre o tema, visto que a composição do sistema adesivo utilizado apresenta características clínicas de maior viscosidade, o que pode ter influenciado no poder de penetração do material. Para Barcellos et al. (2015), o efeito do *laser* auxiliou no nível de penetração, porém, neste estudo os autores utilizaram sistemas adesivos autocondicionantes de viscosidade reduzida, o que pode influenciar nesses casos os resultados imediatos na resistência de união. Apesar do aumento na dimensão dos túbulos observados em MEV, o tratamento a *laser* não foi capaz de influenciar a qualidade da interface de união imediata em termos de porosidade, falhas e características de *tags*, conforme relatado na quarta hipótese de nulidade.

Contudo, muito ainda necessita ser investigado, sobretudo quando se utilizam metodologias já conhecidas sob novas perspectivas, considerando condições longitudinais com diferentes parâmetros e modos de aplicação.

7 CONCLUSÃO

Portanto, mediante às condições apresentadas, de forma imediata, o *laser* não mostrou efeitos deletérios ao processo adesivo, não reduzindo a resistência adesiva e não desnaturando o colágeno exposto após o condicionamento. A análise de textura evidenciou uma tendência à formação de um tecido mais padronizado após o uso do *laser*. Além disso, mostrou-se maior penetrabilidade na avaliação em MEV após o *laser*. Novas pesquisas com avaliação longitudinal mostram-se necessárias para verificar se o efeito do *laser* pode ter sido protetor da degradação hidrolítica, visto que há uma redução do conteúdo de água local durante a formação da camada híbrida.

REFERÊNCIAS

Abedin F, Ye Q, Good HJ, Parthasarathy R, Spencer P. Polymerization - and solvent - induced phase separation in hydrophilic-rich dentin adhesive mimic. *Acta Biomater.* 2014; 10(7): 3038-47. doi: 10.1016/j.actbio.2014.03.001.

Ahmed B, Hamama HH, Mahmoud SH. Microshear bond strength of bioactive materials to dentin and resin composite. *Eur J Dent.* 2022 oct. doi: 10.1055/s-0042-1756692.

Araujo RM, Eduardo CP, Duarte Junior SL, Araujo MA, Loffredo LC. Microleakage and nanoleakage: influence of laser in cavity preparation and dentin pretreatment. *J Clin Laser Med Surg.* 2001;19(6):325-32. doi: 10.1089/104454701753342785.

Arola DD, Gao S, Zhang H, Masri R. The tooth: its structure and properties. *Dent Clin North Am.* 2017 oct.; 61(4): 651-68. doi: 10.1016 / j.cden.2017.05.001.

Barcellos DC, Batista GR, Pucci CR, Persici ES, Borges AB, Torres CR, et al. Longitudinal evaluation of bond strength to enamel of dental adhesive systems associated with Nd:YAG laser. *Oper Dent.* 2015 may-jun.; 40(3): E122-31. doi: 10.2341/13-181-L.

Barcellos DC, Fonseca BM, Pucci CR, Cavalcanti Bd, Persici Ede S, Gonçalves SE. Zn-doped etch-and-rinse model dentin adhesives: Dentin bond integrity, biocompatibility, and properties. *Dent Mater.* 2016; 32(7): 940-50. doi: 10.1016/j.dental.2016.04.003.

Barcellos DC, Pleffken PR, Lepienski CM, Pucci CR, Huhtala MFRL, Gonçalves SE. Mechanical properties of the bond interface associated with ND:YAG laser. *Braz Dent Sci.* 2015; 18(4): 59-67. doi: 10.14295/bds.2015.v18i4.1172.

Batista GR, Barcellos DC, Torres CRG, Damião AJ, Oliveira HPM, Gonçalves SEP. Effect of Nd:YAG laser on the solvent evaporation of adhesive systems. *Int J Esthet Dent.* 2015; 10(4): 598-609. PMID: 26794055.

Bedran-Russo A, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Teixeira EC. An overview of dental adhesive systems and the dynamic tooth-adhesive interface. *Dent Clin North Am.* 2017 oct.; 61(4): 713-31. doi: 10.1016 / j.cden.2017.06.001.

Bolortuya G, Ebihara A, Ichinose S, Watanabe S, Anjo T, Kokuzawa C, et al. Effects of dentin surface modifications treated with er:yag and nd:yag laser irradiation on fibroblast cell adhesion. *Photomed Laser Surg.* 2012; 30(2): 63-70. doi: 10.1089 / pho.2011.3132.

Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Milena C, Tjaderhane L, et al. Dentin bonding systems: from dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dent Mater*. 2018 jan.; 34(1): 78-96. doi: 10.1016 / j.dental.2017.11.005.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955 dec.; 34(6): 848-53. Doi: 10.1177/00220345550340060801.

Burke FJT, Crisp RJ, Cowan AJ, Raybold L, Redfearn P, Sands P, et al. A randomised controlled trial of a universal bonding agent at three years: self etch vs total etch. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 2017 dec.; 25(4): 2020-7. doi: 10.1922 / EJPRD_01692Burke08.

Cardoso GC, Nakanishi L, Isolan CP, Jardim PDS, Moraes RR. Bond stability of universal adhesives applied to dentin using etch-and-rinse or self-etch strategies. *Braz Dent J*. 2019 oct.; 30(5): 467-75. doi: 10.1590/0103-6440201902578.

Costa ALF, Fardim KAC, Ribeiro ID, Jardini MAN, Braz-Silva PH, Orhan K, et al. Cone-beam computed tomography texture analysis can help differentiate odontogenic and non-odontogenic maxillary sinusitis. *Imaging Sci Dent*. 2023: 1-9. doi: 10.5624/isd.20220166.

Da Rosa Rodolpho PA, Rodolfo B, Collares K, Correa MB, Demarco FF, Opdam NJM, et al. Clinical performance of posterior resin composite restorations after up to 33 years. *Dent Mater*. 2022; 38(4): 680-8. doi: 10.1016/j.dental.2022.02.009

Demarco FF, Collares K, Correa MB, Cenci MS, Moraes RR, Opdam NJ. Should my composite restorations last forever? why are they failing? *Braz Oral Res*. 2017; 31(suppl 1): e56. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0056.

Dhruv B, Mittal N, Modi M. Study of haralick's and glcm texture analysis on 3d medical images. *Int J Neurosci*. 2019 Apr;129(4):350-362. doi: 10.1080/00207454.2018.1536052.

Digole VR, Warhadpande MM, Dua P, Dakshindas D. Comparative evaluation of clinical performance of two self-etch adhesive systems with total-etch adhesive system in noncarious cervical lesions: An in vivo study. *J Conserv Dent*. 2020 mar-apr.; 23(2): 190-5.

El Mourad AM. Assessment of bonding effectiveness of adhesive materials to tooth structure using bond strength test methods: a review of literature. *Open Dent J*. 2018 sep.;12: 664-78. doi: 10.2174 / 1745017901814010664.

Franke M, Taylor AW, Lago A, Fredel MC. Influence of Nd:YAG laser irradiation on an adhesive restorative procedure. *Oper Dent*. 2006 sep-oct.; 31(5): 604-9. doi: 10.2341 / 05-110.

Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res*. 1979 apr.; 58(4): 1364-70. doi: 10.1177/00220345790580041101.

Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*. 1976; 21(6): 355-62. doi: 10.1016/s0003-9969(76)80003-9.

Ghajari MF, Ghasemi A, Badiiee M, Abdolazimi Z, Baghban AA. Microshear bond strength of scotchbond universal adhesive to primary and permanent dentin: a six-month in vitro study. *Front Dent*. 2019 may-jun.; 16(3): 173-80. doi: 10.18502/fid.v16i3.1588.

Giacomini MC, Scaffa PMC, Gonçalves RS, Zabeu GS, Vidal CMP, Carrilho MRO, et al. Profile of a 10-MDP-based universal adhesive system associated with chlorhexidine: Dentin bond strength and in situ zymography performance. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020 oct.; 110: 103925. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.103925.

Gonçalves BC, de Araújo EC, Nussi AD, Bechara N, Sarmiento D, Oliveira MS, et al. Texture analysis of cone-beam computed tomography images assists the detection of furcal lesion. *J Periodontol*. 2020 Sep;91(9):1159-1166. doi: 10.1002/JPER.19-0477

Gonçalves SEP, Araújo MA, Damião AJ. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching, and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1999 apr.; 17(2): 77-85. doi: PMID: 11189979.

Grangeiro M, Demachkia AM, Rodrigues CS, Inagati CM, Gonçalves N, Tanaka IV, et al. Effect of multiple firings on the microshear bond strength between a translucent zirconia and a resin cement. *Oper Dent*. 2023; 48(2): 1-8. doi: 10.2341/22-038-L.

Haralick RM, Shanmugam K, Dinstein I. Textural features for image classification. *IEEE transactions on systems, man and cybernetics*. 1973; 3: 610-21.

Hong X, Huang Z, Tong Z, Jiang H, Su M. Clinical effects of different etching modes for universal adhesives: a systematic review and meta-analysis. *Ann Palliat Med*. 2021; 10(5): 5462-73. doi: 10.21037 / apm-21-890.

Ito M, Liu H, Kumagai A, Liang X, Nakajima K, Jinnai H. Direct visualization of interfacial regions between fillers and matrix in rubber composites observed by atomic force microscopy-based nanomechanics assisted by electron tomography. *Langmuir*. 2022 jan.; 38(2): 777-85. doi: 10.1021/acs.langmuir.1c02788.

Kanniappan G, Hari P, Jujare RH. comparative evaluation of resin dentin interface using universal and total-etch adhesive systems on sound and eroded dentin: in vitro study. *Eur J Dent*. 2022 feb.; 16(1): 153-60. doi: 10.1055/s-0041-1734469.

Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiol Rev.* 2017 jul.; 97(3): 939-93. doi: 10.1152/physrev.00030.2016.

Li S, Chang Y, Wang Y, Xu Q, Ge B. A review of sample thickness effects on high-resolution transmission electron microscopy imaging. *Micron.* 2020 mar.; 130: 102813. doi: 10.1016/j.micron.2019.102813.

Lin CP, Lee BS, Lin FH, Kok SH, Lan WH. Phase, compositional, and morphological changes of human dentin after Nd:YAG laser treatment. *J Endod* 2001 jun. 27(6): 389-93. doi: 10.1097/200106000-00004.

Löfstedt T, Brynolfsson P, Asklund T, Nyholm T, Garpebring A. Gray-level invariant Haralick texture features. *PLoS One.* 2019 feb.; 14(2): e0212110. doi: 10.1371/journal.pone.0212110.

Lopes SR, Silva TM, Maselli A, Gonçalves LL, Campos TMB, Gonçalves SEP. Chemical and morphological analysis of dentin collagen degradation after Nd:YAG laser irradiation. *Laser Dent Sci.* 2022; 6: 47-53. doi:10.1007/s41547-022-00149-y.

Lubner MG, Smith AD, Sandrasegaran K, Sahani DV, Pickhardt PJ. CT Textur analysis: definitions, applications, biologic correlates, and challenges. *Radiographics.* 2017 sep-oct.; 37(5): 1483-503. doi: 10.1148/rg.2017170056.

Maenosono RM, Bim Júnior O, Duarte MA, Palma-Dibb RG, Wang L, Ishikiriama SK. Diode laser irradiation increases microtensile bond strength of dentin. *Braz Oral Res.* 2015; 29: 1-5. doi: 10.1590/1807-3107bor-2015.

Marimoto AK, Cunha LA, Yui KCK, Huhtala MFRL, Barcelos DC, Prakki A, et al. Influence of Nd:YAG laser on the bond strength of self-etching and conventional adhesive systems to dental hard tissues. *Oper Dent.* 2013 jul-aug.; 38(4): 447-55. doi: 10.2341 / 11-383-L.

Matos AB, Oliveira DC, Navarro RS, de Eduardo CP, Matson E. Nd:YAG laser influence on tensile bond strength of self-etching adhesive systems. *J Clin Laser Med Surg.* 2000;18(5):253-7. doi: 10.1089/clm.2000.18.253.

Memarpour M, Shafiei F, Razmjouei F, Soltani M. Shear bond strength and scanning electron microscopy characteristics of universal adhesive in primary tooth dentin: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan).* 2018 jul-aug.; 15(4): 264-70.

Moosavi H, Kimyai S, Forghani M, Khodadadi R. The clinical effectiveness of various adhesive systems: an 18-month evaluation. *Open Dent.* 2013; 38(2): 134-41. doi: 10.2341 / 12-110-CR.

Morgan AD, Ng YL, Odlyha M, Gulabivala K, Bozec L. Proof-of-concept study to establish an in situ method to determine the nature and depth of collagen changes in dentine using Fourier Transform Infra-Red spectroscopy after sodium hypochlorite irrigation. *Int Endod J*. 2019 mar.; 52(3): 359-70.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*. 1982; 16(3): 265-73. doi: 10.1002 / jbm.820160307.

Nawareg MM, Zidan AZ, Zhou J, Chiba A, Tagami J, Pashley DH. Adhesive sealing of dentin surfaces in vitro: A review. *Am J Dent*. 2015 dec; 28(6): 321-32.

Nussi AD, Lopes SLPC, Rosa CS, Gomes JPP, Ogawa CM, Braz-Silva PH, et al. In vivo study of cone beam computed tomography texture analysis of mandibular condyle and its correlation with gender and age. *Oral Radiol*. 2022. doi: 10.1007/s11282-022-00620-3.

Perdigão J, Araújo E, Ramos RQ, Gomes G, Pizzolotto L. Adhesive dentistry: current concepts and clinical considerations. *J Esthet Restor Dent*. 2021 jan.; 33(1): 51-68. doi: 10.1111 / jerd.12692.

Perdigão J. Current perspectives on dental adhesion: (1) dentin adhesion - not there yet. *Jpn Dent Sci Rev*. 2020 nov.; 56(1): 190-207. doi: 10.1016 / j.jdsr.2020.08.004.

Perdigão J, Reis A, Loguercio A. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. *J Esthet Restor Dent*. 2013 aug.; 25(4): 219-41. doi: 10.1111 / jerd.12016.

Podoleanu AG. Optical coherence tomography. *J Microsc*. 2012 sep.; 247(3): 209-19. doi: 10.1111/j.1365-2818.2012.03619.x.

Queiroz PM, Fardim KC, Costa AL, Matheus RA, Lopes SL. Texture analysis in cone-beam computed tomographic images of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Imaging Sci Dent*. 2023; 53: e7. doi: 10.5624/isd.20220202.

Ramić BD, Stojanac IL, Drobac MR, Kantardžić IR, Maletin AZ, Cvjetičanin MT, et al. Application of scanning electron microscopy in the observation of dentin-adhesive interface. *Microsc Res Tech*. 2021 apr.; 84(4): 602-7. doi: 10.1002/jemt.23618.

Rosa CS, Bergamini ML, Palmieri M, Sarmento DJS, de Carvalho MO, Ricardo ALF, et al. Differentiation of periapical granuloma from radicular cyst using cone beam computed tomography images texture analysis. *Heliyon*. 2020 oct.; 6(10): e05194. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05194.

Samartzi TK, Papalexopoulos D, Sarafianou A, Kourtis S. Immediate dentin sealing: a literature review. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2021 jun.; 21(13): 233-56. doi: 10.2147 / CCIDE.S307939.

Santis LR, Silva TM, Haddad BA, Gonçalves LL, Gonçalves SEP. Influence of dentin thickness on intrapulpal temperature under simulated pulpal pressure during Nd:YAG laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2017; 32: 161-7. doi: 10.1007 / s10103-016-2098-1.

Silva TM, Gonçalves LL, Fonseca BM, Esteves SRMS, Barcellos DC, Damião AJ, et al. Influence of Nd:YAG laser on intrapulpal temperature and bond strength of human dentin under simulated pulpal pressure. *Lasers Med Sci.* 2016; 31: 49-56. doi: 10.1007 / s10103-015-1827-1.

Silva TM, Petrucelli NF, Mendonça RP, Silva Júnior JP, Campos TMB, Gonçalves SEP. Impact of photoinitiator quality on chemical-mechanical properties of dental adhesives under different light intensities. *Braz Dent Sci* 2023 jan/mar.; 26 (1): e3704.

Soares FZM, Follak A, Rosa LS, Montagner AF, Lenzi TL, Rocha RO. Bovine tooth is a substitute for human tooth on bond strength studies: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Dent Mater.* 2016; 32(11): 1385-93. doi: 10.1016/j.dental.2016.09.019.

Soares LES, Santo AME. Morphological and chemical comparative analysis of the human and bovine dentin-adhesive layer. *Microsc Microanal.* 2015; 21(1): 204-13. Doi: 10.1017/S143192761401366X.

Spencer P, Ye Q, Misra A, Goncalves SE, Laurence JS. Proteins, pathogens, and failure at the composite-tooth interface. *J Dent Res.* 2014 dec.; 93(12): 1243-9. doi: 10.1177/0022034514550039.

Spencer P, Ye Q, Park J, Misra Am Bohaty BS, Singh V, et al. Durable bonds at the adhesive/dentin interface: an impossible mission or simply a moving target?. *Braz Dent Sci.* 2012; 15(1): 4-18. doi: 10.14295/bds.2012.v15i1.790.

Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent.* 2003; 16(1): 6-12.

Topbasi NM, Benkli YA. Evaluation of the bond strength of orthodontic brackets and the degree of polymerisation and microhardness of an orthodontic adhesive using polywave light curing unit and varying light densities. *Braz Dent Sci.* 2020 oct.; 23(4): 1-9. doi: 10.14295/bds.2020.v23i4.2044.

Tzanakakis EGC, Skoulas E, Pepelassi E, Koidis P, Tzoutzas LG. The use of lasers in dental materials: a review. *Materials.* 2021 jun.; 14(12): 3370. doi: 10.3390/ma14123370.

Valizadeh S, Moradi A, Mirazei M, Amiri H, Kharazifard MJ. Microshear bond strength of different adhesive systems to dentin. *Front Dent.* 2019 jul-aug.; 16(4): 265-71. doi: 10.18502/fid.v16i4.2085.

Van Meerbeek B, Yoshihara K, Van Landuyt K, Yoshida Y, Peumans M. From Buonocore's pioneering acid-etch technique to self-adhering restoratives. a status perspective of rapidly advancing dental adhesive technology. *J Adhes Dent*. 2020; 22(1): 7-34. doi: 10.3290/j.jad.a43994.

Vivanco RG, Cardoso RS, Sousa ABS, Chinelatti MA, Vincenti SAF, Tonami-Torrieri R, et al. Effect of thermo-mechanical cycling and chlorhexidine on the bond strength of universal adhesive system to dentin. *Heliyon*. 2020 apr.; 6(4): e03871. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03871.

Ye Q, Park J, Topp E, Spencer P. Effect of photoinitiators on the in vitro performance of a dentin adhesive exposed to simulated oral environment. *Dent Mater*. 2009; 25(4): 452-8. doi: 10.1016/j.dental.2008.09.011.

Zabeu GS, Maenossono RM, Scarcella CR, Brianezzi LFF, Palma-Dibb RG, Ishikiriama SK. Effect of diode laser irradiation on the bond strength of polymerized non-simplified adhesive systems after 12 months of water storage. *J Appl Oral Sci*. 2018; 27: e20180126. doi: 10.1590/1678-7757-2018-0126.

Zezell DN, Boari HGD, Ana PA, Eduardo CP, Powell GL. Nd:YAG laser in caries prevention: a clinical trial. *Lasers Surg Med*. 2009; 41: 31-5. doi: 10.1002/lsm.20738.

Zhu JJ, Tang ATH, Matinlinna JP, Hagg U. Acid etching of human enamel in clinical applications: a systematic review. *J Prosthet Dent*. 2014 aug.; 112(2): 122-35. doi: 10.1016/j.prosdent.2013.08.024.