



UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Cirugía

TESIS DOCTORAL

Directores: Dr. D. Alberto Albaladejo - Dr. D. Pablo Moreno

APLICACIÓN DEL LÁSER DE
FEMTOSEGUNDO EN LA DENTINA

ANÁLISIS MORFOLÓGICO
Y MEJORA DE LA EFICACIA
ADHESIVA RESINA-DENTINA

María Portillo Muñoz
Salamanca, 2014

El Dr. D. CLEMENTE MURIEL VILLORIA,

Director del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca,

CERTIFICA:

Que la presente Memoria, elaborada por **D^a. María Portillo Muñoz** para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca, con el título “Aplicación del láser de femtosegundo en dentina: análisis morfológico y mejora de la eficacia adhesiva resina-dentina”, ha sido realizada bajo la dirección de los Drs. **D. Alberto Albaladejo Martínez** y **D. Pablo Moreno Pedraz** en el Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, expide y firma la presente certificación.

En Salamanca, a 3 de febrero de 2014.

Fdo.: Clemente Muriel Villoria

Los Drs. D. ALBERTO ALBALADEJO MARTÍNEZ y D. PABLO MORENO PEDRAZ,
profesores del Departamento de Cirugía e Ingeniería Mecánica, respectivamente, de la
Universidad de Salamanca,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo titulado: *“Aplicación del láser de femtosegundo en dentina: análisis morfológico y mejora de la eficacia adhesiva resina-dentina”*, ha sido realizado por la licenciada en Odontología **D^a. María Portillo Muñoz**, bajo su dirección. Habiéndose concluido y reuniendo, a su juicio, las condiciones de originalidad y rigor científico necesarias, autorizan su presentación a fin de que pueda ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expiden y firman la presente certificación.

En Salamanca, a 3 de febrero de 2014

Fdo.: Alberto Albaladejo Martínez

Fdo.: Pablo Moreno Pedraz

Agradecimientos

La realización de este trabajo nunca hubiera sido posible sin la generosa colaboración de muchas personas; por esta razón quiero agradeceré a todas ellas y muy especialmente:

Al Dr. D. Alberto Albaladejo, por asumir la dirección de esta tesis, por haberme iniciado en el campo de la adhesión, por su asesoramiento científico y por su constancia y empeño en que todo saliera adelante.

Al Dr. D. Pablo Moreno, por su enorme paciencia a la hora de explicarme los complicados procesos de la física del láser. Por haberme enseñado el verdadero sentido de la investigación y porque en los momentos difíciles me ha sabido transmitir que con trabajo y dedicación todo se consigue.

Al Dr. D. José Miguel Sánchez Llorente, porque estuvo conmigo en el inicio de este trabajo y siempre me ha prestado su ayuda incondicional.

A M^ª Cruz Lorenzo, porque juntas hemos emprendido muchos proyectos y juntas los estamos terminando. Por ser mucho más que una amiga para mí. Gracias por haber estado ahí en todo momento, por haberme dado siempre su apoyo y ayuda. Porque gracias a ella todo este trabajo ha sido más llevadero.

Al grupo de Microprocesado de Materiales con Láser de la Universidad de Salamanca, especialmente a Ana García, por el tiempo dedicado en el procesado de las muestras.

Al Centro de Láseres Pulsados (CLPU), en especial a José Antonio Pérez Hernández, por la realización de las imágenes de microscopía electrónica de barrido.

Al Dr. D. Javier Montero, por el asesoramiento en el análisis estadístico de los datos.

A los cirujanos maxilofaciales José Antonio Blanco y Arturo de Paz, por esos cordales tan bien extraídos, porque formamos un gran equipo y por los buenos momentos que pasamos juntos.

A Javier, por ser la persona más importante en mi vida. Porque a su lado soy feliz. Por su amor incondicional, por saber sacar siempre lo mejor de mí. Porque aunque la realización de esta tesis me ha robado mucho tiempo a su lado, siempre me ha apoyado y animado. Gracias por ser como eres.

A mis padres, por su inmenso amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, por los valores que me han inculcado y por ser mi ejemplo a seguir en todos los sentidos. Gracias a vosotros he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

A mi hermano, porque juntos hemos aprendido a vivir, hemos crecido cómplices día a día compartiendo momentos maravillosos. Porque aunque te tengo un poquito lejos, en este momento tan especial te siento muy cerca.

A mi familia y amigos, porque cada uno de ellos me han dado alegría y fuerza para seguir adelante, porque aunque en estos últimos años no he tenido tiempo de verlos todo lo que hubiera querido, nuestra amistad y cariño no se ha resentido.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

A Javier

A mis padres y hermano

RESUMEN.....	21
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	31
I.1. Características de la dentina.....	33
I.1.1. Composición química.....	33
I.1.2. Componentes estructurales de la dentina.....	34
I.1.3. Barrillo dentinario.....	35
I.2. Mecanismos de adhesión a dentina.....	36
I.2.1. Factores que influyen sobre la adhesión.....	37
I.3. Sistemas adhesivos. Clasificación y características.....	39
I.3.1. Clasificación cronológica de los sistemas adhesivos.....	41
I.3.2. Clasificación de los sistemas adhesivos según los pasos clínicos y el modo de interacción con el sustrato.....	45
I.3.2.1. Adhesivos que eliminan el barrillo dentinario (grabado total).....	45
<i>I.3.2.1.1. Adhesivos de tres pasos.....</i>	<i>45</i>
<i>I.3.2.1.2. Adhesivos de dos pasos.....</i>	<i>46</i>
<i>I.3.2.1.3. Actualización bibliográfica de la eficacia adhesiva resina-dentina empleando adhesivos de grabado total de dos y tres pasos.....</i>	<i>47</i>
I.3.2.2. Adhesivos que disuelven el barrillo dentinario (autograbadores).....	50
<i>I.3.2.2.1. Adhesivos de dos pasos.....</i>	<i>50</i>
<i>I.3.2.2.2. Adhesivos de un paso (all-in-one).....</i>	<i>51</i>
<i>I.3.2.2.3. Actualización bibliográfica de la eficacia adhesiva resina-dentina empleando adhesivos autograbadores de dos y un paso.....</i>	<i>52</i>
I.3.2.3. Adhesivos que modifican el barrillo dentinario.....	55
I.4. Procesado de la dentina mediante láser.....	56
I.4.1. Introducción al láser y sus propiedades.....	56
I.4.2. El láser en Odontología.....	57
I.4.3. Láseres de Erblio (Er:YAG y Er,Cr:YSGG).....	60

I.4.3.1. Evolución de los láseres de Erbio.....	60
I.4.3.2. Características del láser de Er:YAG.....	61
I.4.3.3. Interacción del láser de Er:YAG con la materia.....	62
I.4.3.4. Aplicaciones del láser de Er:YAG en Odontología.....	64
I.4.3.4.1. Láser de Er:YAG para realización de cavidades.....	65
I.4.3.4.2. Adhesión a la superficie de dentina tratada con el láser de Er:YAG.....	67
I.4.4. Láser de Ti:Zafiro (pulso ultracorto).....	70
I.4.4.1. Evolución del láser de Ti:Zafiro.....	70
I.4.4.2. Características del láser de Ti:Zafiro.....	71
I.4.4.3. Interacción del láser de Ti:Zafiro con la materia.....	78
I.4.4.4. Aplicaciones del láser de Ti:Zafiro en Odontología.....	87
I.4.4.4.1. Láser de Ti:Zafiro para realización de cavidades.....	88
I.4.4.4.2. Adhesión a la superficie de dentina tratada con el láser de Ti:Zafiro.....	89
I.5. Test de medición de la resistencia adhesiva en dentina.....	92
CAPÍTULO II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN.....	97
CAPÍTULO III. PUBLICACIONES ORIGINALES.....	103
III.1. Morphological alterations in dentine after mechanical treatment and ultrashort pulse laser irradiation.....	105
III.2. Influence of Er:YAG and Ti:sapphire laser irradiation on the microtensile bond strength of several adhesives to dentin.....	113
III.3. Assessment of the effect of ultrashort pulsed laser microstructuring and acid etching on microtensile bond strength of a total-etching adhesive to dentin.....	125
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN.....	155
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	175
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA.....	179

Figuras

Figura 1. Esquema ilustrativo de los tres estudios realizados en la presente tesis.....	26
Figura 2. Gráfica del coeficiente de absorción lineal de la hidroxiapatita carbonatada en función de la longitud de onda. Tomada de Parker, 2007.....	63
Figura 3. Representación esquemática de la técnica de amplificación regenerativa de pulsos ultracortos CPA (<i>Chirped Pulse Amplification</i>).....	72
Figura 4. Sistema de pulsos láser ultracortos de la Universidad de Salamanca.....	72
Figura 5. Oscilador de Ti:Zafiro.....	73
Figura 6. Sistema de amplificación de pulsos.....	73
Figura 7. Láser de bombeo del amplificador regenerativo. Láser de Nd:YLF.....	74
Figura 8. Distribución transversal de la energía de tipo gaussiana (modo transversal TEM ₀₀)..	74
Figura 9. Dispositivo de selección del número de pulsos (obturador mecánico, a la izquierda), dispositivo de control de la energía de pulso (lámina $\lambda/2$ y polarizador lineal) y espejo.....	75
Figura 10. Visión general del banco de microprocesado.....	75
Figura 11. Sistema de focalización y emplazamiento de la muestra.....	76
Figura 12. Sistema de visualización y enfoque. Espejo, divisor de haz y cámara CCD.....	76
Figura 13. Sistema de focalización (doblete acromático).....	77
Figura 14. Sistema de posicionamiento de la muestra XYZ.....	78
Figura 15. Representación esquemática del proceso de absorción y de ionización multifotónica de un material dieléctrico como la dentina cuando sobre ella inciden pulsos ultracortos intensos (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser de la Universidad de Salamanca).....	80
Figura 16. Representación esquemática del proceso de ablación por explosión de Coulomb (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).....	81
Figura 17. Procesos de cesión de energía de los electrones a la red cristalina por colisión y de termalización electrónica (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser)..	82
Figura 18. Representación esquemática del proceso de ablación por explosión de fase	

(Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).....	83
Figura 19. Secuencia de imágenes obtenidas por dispersión de la luz, mostrando la eyección de material en zirconia por explosión de fase al ser irradiada la superficie con un pulso ultracorto suficientemente intenso (Tomada de Heiroth y cols., 2010).....	83
Figura 20. a) Distribución de la energía de un pulso láser gaussiano sobre la superficie de un material al pasar por una apertura circular de diámetro inferior a la sección del haz; b) Estructuras producidas por ablación con pulsos ultracortos sobre la superficie de nitruro de silicio utilizando la misma apertura circular de (a) y diferentes energías de pulso (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).....	84
Figura 21. Sistema de humidificación empleado en el procesado de dentina para los estudios de adhesión.....	86
Figura 22. Cráteres realizados en metal con láser de nano, pico y femtosegundo, respectivamente. Tomado de Chichkov y cols. (1996).....	87
Figura 23. Esquema de la metodología utilizada para el MTBS.....	95

Figuras en artículos publicados

Figura 1.1. Micrografía MEB de una cavidad en dentina realizada con láser de femtosegundo con $E= 0.007\text{mJ}$, $v= 0.05\text{ mm/s}$ y $s= 0.02\text{ mm}$ (aumento original X374).....	109
Figura 1.2. Micrografía MEB de una cavidad en dentina realizada con láser de femtosegundo con $E= 0.007\text{mJ}$, $v= 0.1\text{ mm/s}$ y $s= 0.01\text{ mm}$ (aumento original X374).....	110
Figura 1.3. Micrografía MEB de una cavidad en dentina realizada con láser de femtosegundo con $E= 0.03\text{mJ}$, $v= 0.05\text{ mm/s}$ y $s= 0.02\text{ mm}$ (aumento original X374).....	110
Figura 1.4. Micrografía MEB de una cavidad en dentina realizada con láser de femtosegundo con $E= 0.03\text{mJ}$, $v= 0.1\text{ mm/s}$ y $s= 0.01\text{ mm}$ (aumento original X374).....	110
Figura 1.5. Micrografía MEB de una cavidad en dentina realizada con fresa de carburo de tungsteno a una velocidad de 450.000 rpm bajo abundante irrigación con agua (aumento original X100).....	110

Figura 2.1. Micrografías MEB de la superficie de dentina tras la irradiación con láser de Ti:Zafiro a 5.57 kV. Aumento original: a: X3,200 y b: X6,530.....**120**

Figura 2.2. Micrografías MEB de un espécimen de dentina fracturado de Clearfil SE a 4.64 kV: grupo control (a,b), láser de Er:YAG (c,d), y láser de Ti:Zafiro (e, f). Aumento original: X500 (columna izquierda); X2,000 (columna derecha).....**121**

Figura 3.1. Micrografías MEB de la superficie de dentina: grupo control (a,b) y grupos procesados con laser: 0.030 mJ (c,d), 0.045 mJ (e,f), 0.070 mJ (g,h). En la columna derecha los especímenes fueron tratados con grabado ácido tras el tratamiento láser mientras que en la columna izquierda se muestran las imágenes de las superficies procesadas con láser sin la aplicación del ácido.....**152**

Tablas

Tabla 1. Generaciones de los sistemas adhesivos y características.....	44
Tabla 2. Revisión bibliográfica de los artículos referentes a los valores de fuerza de adhesión de los sistemas adhesivos de grabado total a dentina.....	48
Tabla 3. Revisión bibliográfica de los artículos referentes a los valores de fuerza de adhesión de los sistemas adhesivos autograbadores a dentina.....	53
Tabla 4. Tipos de láseres más habituales con su longitud de onda y duración temporal de la emisión.....	57
Tabla 5. Revisión bibliográfica de los artículos referentes a la aplicación del láser de Er:YAG sobre dentina.....	66
Tabla 6. Revisión bibliográfica de los artículos referentes al estudio de las fuerzas de adhesión obtenidas tras la irradiación con láser de Er:YAG.....	68
Tabla 7. Revisión bibliográfica de los artículos referentes a la aplicación del láser de pulso ultracorto sobre dentina.....	90
Tabla 8. Ventajas e inconvenientes de los test de microtensión (MTBS) y microcizalla (SBS)...	93

Tablas en artículos publicados

Tabla 1.1. Representación esquemática de los parámetros utilizados.....	108
Tabla 2.1. Fabricante, composición y modo de aplicación de los materiales utilizados.....	117
Tabla 2.2. Estadística descriptiva de los valores de microtensión en megapascales de los especímenes testados.....	119
Tabla 2.3. Tabla de contingencia del tipo de fallo (adhesivo, cohesivo, mixto) dentro de los grupos de láser.....	120
Tabla 3.1. Fabricante, composición y modo de aplicación de los adhesivos utilizados.....	149
Tabla 3.2. Estadística descriptiva de los valores de microtensión en megapascales de los especímenes testados. Anova en filas y t de Student en columnas.....	150
Tabla 3.3. Tipo de fallo entre los grupos.....	151

Acrónimos

ANSI	Instituto Nacional Estadounidense de Estándares
CO₂	Dióxido de Carbono
CPA	Chirped Pulse Amplification
CSE	Clearfil SE Bond
CW	Continuous Wave
Er:YAG	Erbium-doped yttrium aluminium garnet
Er, Cr:YSGG	Erbium, chromium- doped yttrium, scandium, gallium, garnet
FDA	Food and Drug Administration
fs	femtosegundo
GMDP	ácido glicerofosfórico
HEMA	hidroxietil metacrilato
He-Ne	Helio-Neón
Hz	hertzio
Ho:YAG	Holmium-doped yttrium-aluminum-garnet
ISO	Organización Internacional para la Estandarización
kV	kilovoltio
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LP	Long Pulse
M	Media
MASER	Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation
MEB	Microscopía Electrónica de Barrido
mJ	milijulio
MMPs	Metaloproteinasas
MO	Microscopía Óptica
MPa	megapascales
MTBS	Microtensile Bond Strength Test
Nd:YAG	Neodymium-doped Yttrium-Aluminium-Garnet

Nd:YLF	Neodymium-doped Yttrium-Lithium Fluoride
Nd:YVO	Neodymium-doped Yttrium Orthovanadate
nJ	nanojulio
OAO	Optibond All in one
ps	picosegundo
rpm	revoluciones por minuto
SBS	Shear Bond Strength test
SEM	Scanning Electron Microscopy
SD	Desviación estándar
SP	Short Pulse
Ti:Zafiro	Titanium:Zafiro
VLP	Very Long Pulse
VSP	Very Short Pulse
XT	Adper Scotchbond 1 XT





RESUMEN

En los últimos años, la evolución de la tecnología láser ha supuesto el desarrollo de innumerables aplicaciones en todos los sectores tecnológicos incluyendo los relacionados con el ámbito biomédico. Dentro de la gran variedad de sistemas láser existentes, algunos de ellos, por sus especiales características a la hora de interactuar con los tejidos biológicos, han despertado un gran interés en diferentes especialidades quirúrgicas y, en particular, en el campo de la Odontología. Entre estos sistemas, aquellos basados en la tecnología de pulsos ultracortos, pulsos cuya duración es inferior al ps (10^{-12} s), han surgido como una alternativa a los procedimientos tradicionales de modificación o preparación de los tejidos duros dentales como resultado de sus extraordinarias propiedades de interacción, en concreto, la ausencia o minimización de los efectos mecánicos y térmicos adversos que son habituales cuando se emplean otras técnicas.

Para la realización de la presente tesis doctoral nos propusimos investigar si este tipo de láseres podría constituir una herramienta de utilidad en el campo de la Odontología; en particular, si podría considerarse como una alternativa a la preparación cavitaria convencional de la dentina, ya que ésta presenta numerosos inconvenientes que llevan a una remoción no selectiva del tejido, dolor, necesidad de anestesia, formación de fisuras o efectos térmicos no deseados sobre la superficie. Al mirar la dentina irradiada con láser de Ti:Zafiro con microscopía, observamos que éste dejaba una superficie diferente a la producida por una fresa, ya que era rugosa e irregular, no mostraba la presencia de barrillo dentinario y dejaba expuestas las entradas de los túbulos dentinarios.

Por todo ello, era necesario observar si los sistemas adhesivos más empleados actualmente en la Odontología (grabado total de dos pasos y autograbadores de dos y un paso) podrían obtener una eficacia adhesiva resina-dentina similar, o incluso aumentarla, al aplicarlos sobre este sustrato obtenido al realizar las cavidades con el láser de Ti:Zafiro. Además, se intentó omitir el paso del grabado ácido en los adhesivos de grabado total ya que, al producir una superficie teóricamente propensa a una correcta técnica adhesiva, aunque hay que tener en cuenta que se intentaba cambiar el patrón tradicional de adhesión a dentina, se podía obtener una eficacia adhesiva resina-dentina similar pero con el beneficio de ahorrar un paso, tiempo, costos y todos los inconvenientes que la técnica de acondicionamiento ácido presenta.

Por todo lo expuesto, en la investigación objeto de esta tesis doctoral se plantearon los siguientes objetivos:

- 1)** Evaluar y comparar los cambios morfológicos que ocurren en la dentina después del tratamiento con instrumentación mecánica con turbina o la irradiación con láser de pulsos ultracortos con distintos parámetros.
- 2)** Investigar la influencia de la irradiación previa en la dentina con láser de Er:YAG y de Ti:Zafiro sobre la eficacia adhesiva resina-dentina de tres sistemas adhesivos.
- 3)** Determinar el efecto del microestructurado de la dentina con láser de Ti:Zafiro, utilizando diferentes energías de pulso, en las fuerzas de microtensión obtenidas con un adhesivo de grabado total de dos pasos al aplicarlo sólo con el acondicionamiento con láser o junto al ácido ortofosfórico.

Para la realización de la tesis se emplearon 96 terceros molares totalmente incluidos, con los que se llevaron a cabo tres estudios de investigación *in vitro* (**Figura 1**).

En el **primer estudio**, se investigó cómo actúa el láser de pulso ultracorto en la preparación cavitaria de la dentina como sustituto del método convencional de turbina y fresa. Para llevarla a cabo se emplearon 6 terceros molares totalmente incluidos, que se seccionaron transversalmente por la línea amelocementaria, desechando la raíz. La corona se dividió longitudinalmente en sentido vestibulolingual en láminas de aproximadamente 1mm de grosor y se descartaron las láminas que contenían esmalte en su totalidad. Posteriormente, las muestras se pulieron y dividieron en dos grupos de acuerdo a la preparación cavitaria realizada: 1) preparación cavitaria mecánica; y 2) preparación cavitaria con láser Ti:Zafiro con distintos parámetros. Finalmente, se preservaron en suero salino fisiológico para prevenir la deshidratación hasta la posterior realización del análisis con microscopio electrónico de barrido (MEB) y microscopio óptico (MO).

A la vista de los resultados favorables obtenidos tras el análisis morfológico, observamos que el sustrato de dentina mostraba una morfología diferente a la dada por la fresa cuando se realizaba una preparación cavitaria, lo cual hacía necesario saber si los sistemas adhesivos más empleados actualmente en nuestras consultas mantendrían o mejorarían la eficacia adhesiva resina-dentina. De modo que se planteó el **segundo estudio**, en el que se evaluó la influencia de la aplicación del láser de Ti:Zafiro en la adhesión a dentina utilizando distintos sistemas adhesivos. Se utilizaron 27 molares totalmente incluidos que se pulieron y asignaron al azar en tres grupos, de acuerdo al tratamiento láser aplicado sobre la dentina: **1)** sin láser (control); **2)** con láser de Er:YAG; y **3)** con láser de Ti:Zafiro. Cada grupo se dividió a su vez en tres subgrupos en función del sistema adhesivo utilizado (adhesivo de grabado total en dos pasos, de autograbado en dos pasos y de autograbado en un paso). Posteriormente, se construyeron sobre la dentina coronas de composite de 4-5 mm de altura. Después de 24 horas, se cortaron las muestras para obtener barras de 1mm² que fueron sometidas a ensayos mecánicos de microtensión.

Adicionalmente, se emplearon 15 molares más para el análisis morfológico de la superficie mediante MO y MEB que se subdividieron en tres grupos: control, láser de Er:YAG y láser de Ti:Zafiro.

Para el **tercer estudio**, se utilizaron 32 molares totalmente incluidos con la intención de suprimir el acondicionamiento ácido en los adhesivos de grabado total aprovechando la superficie dejada por el láser Ti:Zafiro al llevar a cabo la preparación cavitaria, e investigar el efecto de las variaciones de la energía del láser sobre la fuerza de microtensión en la interfase resina-dentina. Las muestras se pulieron y se dividieron al azar en cuatro grupos dependiendo de la energía de pulso utilizada con el láser de Ti:Zafiro: **1)** sin láser (control); **2)** 0.030 mJ **3)** 0.045 mJ; **4)** 0.070 mJ. Posteriormente, cada grupo fue dividido a su vez en dos subgrupos en función de si se le aplicaba o no grabado ácido previo a la aplicación del adhesivo de grabado total en dos pasos. A continuación, se construyeron sobre la dentina coronas de composite de 4-5 mm de altura. Después de 24 horas, se cortaron las muestras para obtener barras de 1mm² que fueron sometidas a ensayos mecánicos de microtensión.

Además, en este tercer estudio se utilizaron 16 molares más para el análisis morfológico de la superficie (control, 0.030 mJ, 0.045 mJ, 0.070 mJ). Por cada grupo, dos especímenes se grabaron con ácido ortofosfórico tras el tratamiento de la superficie y los otros dos no. Posteriormente, las muestras fueron analizadas mediante MO y MEB.

En la **figura 1** se muestra un esquema que sintetiza los grupos empleados para cada estudio.

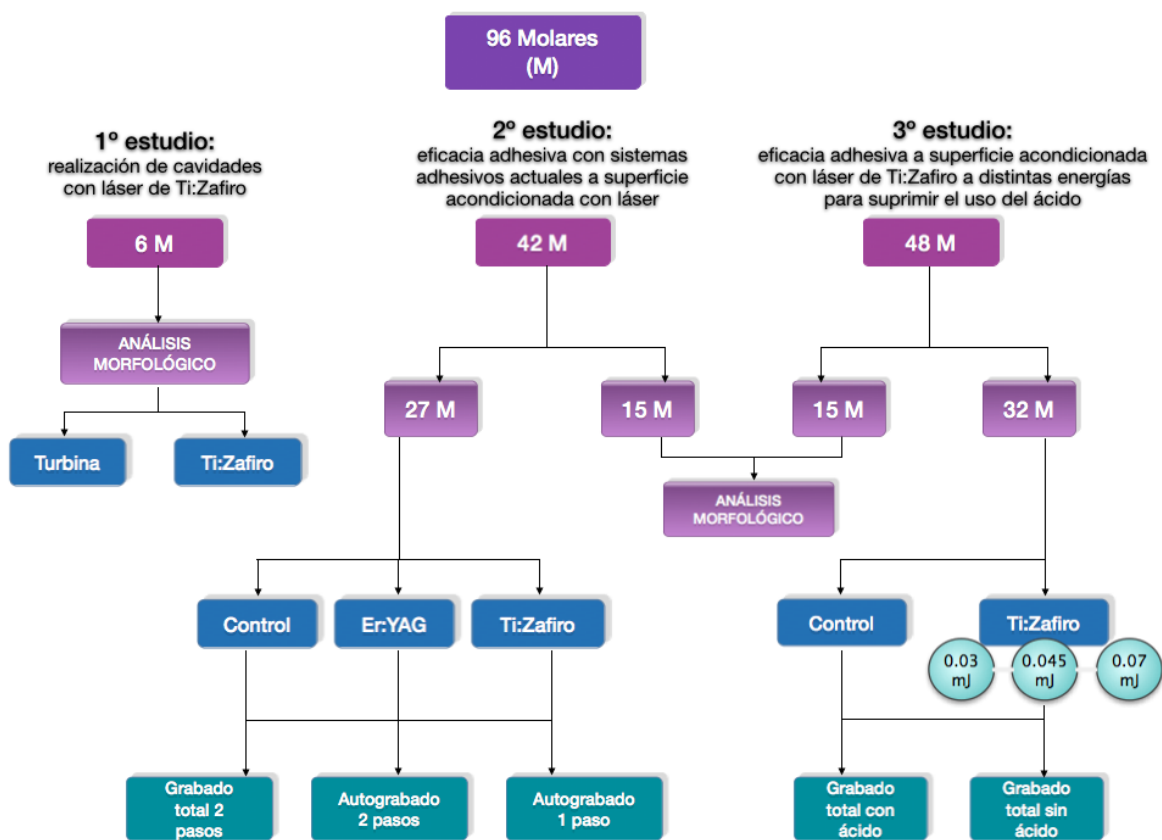


Figura 1: Esquema ilustrativo de los tres estudios realizados en la presente tesis.

La metodología utilizada en los estudios de adhesión fue la siguiente:

- 1)** Los ensayos mecánicos de microtensión se realizaron con una máquina universal de ensayo (velocidad de la cruceta = 0.5mm/min) hasta que se produjo la fractura del espécimen.

- 2)** La observación del tipo de fallo y la morfología de la superficie de las zonas de fractura se realizó mediante el MO y, las más representativas, con MEB. Los datos se analizaron estadísticamente con ANOVA, test de Bonferroni, t de Student, pruebas de Chi cuadrado y de regresión lineal múltiple ($p < 0.05$).

Los resultados obtenidos en los tres estudios se pueden resumir en:

- a)** Al observar los resultados obtenidos con las dos técnicas utilizadas pudimos comprobar claras diferencias en las cavidades realizadas con turbina y con láser de Ti:Zafiro. Así, en las realizadas con el láser de pulso ultracorto no se observaron microfisuras, la superficie tratada presentó un aspecto rugoso e irregular sin presencia de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos. Por el contrario, las cavidades realizadas con instrumental rotatorio tenían una superficie lisa con presencia de microfisuras, una amplia zona de carbonización y fusión, los túbulos dentinarios obstruidos y presencia de barrillo dentinario.

- b)** Al estudiar la eficacia adhesiva resina-dentina con el acondicionamiento previo de la superficie con láser Er:YAG y de Ti:Zafiro, se observó que el adhesivo autograbadador de dos pasos obtuvo los mejores valores de microtensión, así como cuando no se aplicó láser previamente. El adhesivo de grabado total de dos pasos y el autograbadador de dos pasos mostró unos valores de microtensión más bajos con la aplicación de ambos láseres, que los obtenidos en el grupo control, (sin láser). Sin embargo, cuando se utilizó el adhesivo autograbadador de un paso no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos.

c) Al intentar sustituir en un adhesivo de grabado total de dos pasos el acondicionamiento ácido por la irradiación con Ti:Zafiro, se observó que cuando no se aplicaba ácido ortofosfórico, al emplear el láser aumentan los valores de microtensión en comparación con el grupo control (sin láser y sin ácido), aunque no se observaron diferencias significativas entre las distintas energías aplicadas. Sin embargo, cuando se aplicó grabado ácido, en el grupo control se obtuvieron valores de adhesión más altos que en los grupos tratados con láser para cualquiera de las energías aplicadas.

Los resultados de nuestro estudio permiten concluir lo siguiente:

1º) La aplicación del láser de pulso ultracorto (Ti:Zafiro) se presenta como una alternativa a la técnica mecánica convencional puesto que permite la ablación de la dentina con efectos colaterales mínimos sobre el tejido original remanente.

2º) El acondicionamiento dentinario previo, tras la irradiación con láser de Er:YAG y de Ti:Zafiro, disminuye la eficacia adhesiva resina-dentina cuando se utiliza un adhesivo de grabado total de dos pasos o autograbador de dos pasos; sin embargo, las fuerzas de microtensión se mantienen iguales al emplear un adhesivo autograbador de un paso.

3º) El microestructurado de la dentina con el láser de Ti:Zafiro disminuye las fuerzas de microtensión del adhesivo de grabado total de dos pasos al sustituirlo por el acondicionamiento con ácido ortofosfórico. De hecho, se ha observado que aunque la posterior aplicación de grabado ácido sobre la dentina irradiada mejora los valores de adhesión, éstos no alcanzan los obtenidos tras la aplicación del grabado ácido sin tratamiento láser previo. Las distintas energías de pulso del láser empleadas, para ablaciones moderadas de dentina, no afectan a la eficacia adhesiva resina-dentina de los adhesivos de grabado total de dos pasos.





CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I.1. Características de la dentina

La dentina es el tejido que constituye la mayor parte del volumen del diente. Ésta le proporciona la forma y rigidez necesarias para una función eficaz durante la masticación. Es un tejido más duro que el hueso y que el cemento, pero más blando y menos frágil que el esmalte. Es muy permeable ya que se encuentra atravesado por los túbulos dentinarios (Goldberg y cols., 2011).

I.1.1. Composición química

Desde un punto de vista histológico, la dentina es un tejido conjuntivo mineralizado y avascular. Está compuesta, en peso, por un 70% de material inorgánico, un 18% de material orgánico y un 12% de agua; esta proporción varía dependiendo del tipo de dentina y de su proximidad a la pulpa. La proporción del componente orgánico es mayor que en el esmalte, el cual está compuesto en un 96% por material inorgánico, un 1% por fibras de colágeno y en un 3% por agua (Mjör y Fejerskov, 1989).

La parte inorgánica la forman principalmente cristales de hidroxiapatita, que son más pequeños y delgados que los cristales de hidroxiapatita del esmalte. Junto a estos cristales podemos encontrar: fosfatos cálcicos amorfos, carbonatos, sulfatos y ciertos oligoelementos como fluoruro, cobre, zinc, hierro y magnesio (Mjör y Fejerskov, 1989).

La porción orgánica está compuesta en un 93% por fibras de colágeno tipo I. El resto del componente orgánico lo forman fracciones de lípidos, glucosaminoglicanos, compuestos proteicos no identificados y ácido cítrico (Mjör y Fejerskov, 1989; Schroeder, 1991).

Como consecuencia de la mineralización progresiva de la dentina durante toda la vida, esta composición variará, según la edad del diente.

I.1.2. Componentes estructurales de la dentina

Entre los componentes estructurales de la dentina se encuentran:

-Túbulos dentinarios: al observar con aumento el complejo dentinopulpar podemos observar unas estructuras tubulares que atraviesan la dentina en todo su espesor; estos túbulos están llenos de líquido tisular y ocupados en gran parte de su longitud por las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos. Se extienden desde la unión amelodentinaria hasta la pulpa. Siguen un trayecto en forma de S desde la superficie externa de la dentina hasta su límite con la pulpa en la dentina coronaria (Schilke y cols., 2000).

El número de túbulos por unidad de superficie es mayor cerca de la pulpa (50000/mm²) que a nivel de la unión amelodentinaria y cementodentinaria (10000/mm²) (Ferrari, 2000). Su diámetro a nivel pulpar es de 2,5-4 µm y de 1µm-900 nm a nivel periférico (Bhaskar, 1993; Schilke y cols., 2000).

Dourda (1994), analizó la densidad tubular de terceros molares jóvenes encontrando 22000, 37000 y 48000 túbulos por mm² en la dentina superficial, media y profunda, respectivamente.

La estructura tubular de la dentina puede servir de retención microscópica, pero hay que tener en cuenta que tanto la densidad de túbulos por mm² como su diámetro es muy variable.

El líquido en el interior de los túbulos tiene una determinada presión. La presión hidrostática es un factor a tener en cuenta en el estudio de la adhesión, debido a que proporciona un flujo permanente y constante de líquido hacia el exterior (Ciucchi y cols., 1995). La exposición de los túbulos a través del grabado ácido de los sistemas adhesivos provoca un aumento de la conductancia hidráulica y, por tanto, de la humedad en la zona donde el adhesivo ejerce su acción (Pashley y cols., 1981).

-Dentina peritubular: es la que se observa en la luz de los túbulos dentinarios. Está altamente mineralizada, por lo que su matriz orgánica es muy pobre en fibras de colágeno. La formación de dentina peritubular es un proceso continuo (en el que pueden influir factores ambientales o patológicos), que va reduciendo la luz de los túbulos dentinarios, y puede llegar a obliterarlos. Su grosor es variable, siendo aproximadamente de 0.75 μm en la dentina externa y de 0.4 μm en la interna (Bhaskar, 1993).

-Dentina intertubular: es la que se encuentra entre la dentina peritubular y constituye la mayor parte del diente. Está formada por una red de fibras de colágeno sobre la que se depositan cristales de apatita. Al tener mayor contenido de colágeno, está menos calcificada que la peritubular (Mjör y Fejerskov, 1989; Bhaskar, 1993). Las fibras de colágeno se encuentran orientadas al azar alrededor de los túbulos dentinarios y tienen un diámetro variable de 0.05 a 0.2 μm (Mjör y Fejerskov, 1989).

-Dentina interglobular: está formada por zonas de dentina no mineralizadas o hipomineralizadas que persisten dentro de la dentina madura. Hay un defecto de mineralización, pero no de la matriz orgánica, por lo que el patrón de distribución tubular es normal excepto que no hay dentina peritubular en estas áreas (Chowdhary y Subba, 2010).

I.1.3. Barrillo Dentinario

El barrillo dentinario o *smear layer* es un conglomerado de tejido orgánico e inorgánico, proteínas coaguladas, células sanguíneas y, en algunas ocasiones, microorganismos (Abbott y cols., 1991; Sen y cols., 1995). Resulta de las maniobras terapéuticas practicadas sobre el diente al cortar las superficies de los tejidos mineralizados; además, se adhiere fácilmente a las paredes de la cavidad sin que se pueda remover de la misma con la simple aplicación de agua y aire, representando así la interfase entre el diente y el material restaurador (Toledano y cols., 2003a; Albaladejo, 2006).

El barrillo dentinario tiene un grosor de 1 a 5 μm aproximadamente, aunque dicho grosor depende del tipo de instrumento usado para la preparación y de si durante la preparación cavitaria la dentina estaba seca o húmeda (Van Meerbeek y cols., 1993). Una parte del barrillo dentinario es superficial y la otra se encuentra compactada en el interior de los túbulos dentinarios por un fenómeno de capilaridad como consecuencia de las fuerzas adhesivas producidas entre los túbulos dentinarios y el material residual. La penetración del material residual dentro de los túbulos es aproximadamente de 40 μm (Sen y cols., 1995; Cohen, 2002).

Hubo una gran controversia con respecto a la conservación del barrillo o no. Los autores partidarios de su conservación se basaban en que si se elimina el barrillo, desaparece una barrera física que impide la entrada de bacterias a través de los túbulos (Sano y cols., 1999; Tay y cols., 2000; Toledano y cols., 2003b). Por el contrario, los partidarios de eliminarlo demostraron que cuando el barrillo dentinario cubría la dentina tras la preparación cavitaria, éste podía interferir negativamente en los posteriores procesos de adhesión (Sen y cols., 1995; Calt y Serper, 2000; Mahdan y cols., 2013).

Con la llegada de los adhesivos de autograbado, que cambian el concepto del acondicionamiento de la dentina, se plantea nuevamente su papel; la disolución parcial del barrillo dentinario y la posterior impregnación por la resina serán entonces el soporte físico de la adhesión (Hayakawa y cols., 1995; Albaladejo y cols., 2010).

I.2. Mecanismos de adhesión a dentina

La palabra adherir proviene del prefijo latino *ad-* (hacia) y del verbo *haerere* (pegar) y significa pegar algo a otra cosa (DRAE, 2001).

La *adhesión* se define como el estado por el que dos superficies se mantienen juntas mediante

fuerzas o energías interfaciales basadas en mecanismos químicos, mecánicos o ambos con la mediación de un adhesivo (ISO/TR 11405: 1993). El material que une dos superficies se denomina adhesivo y la superficie a adherir se denomina adherente o sustrato. El espacio virtual que hay entre las superficies unidas se denomina interfase. Para que se produzca una buena adhesión tiene que existir una buena humectabilidad y un íntimo contacto entre las superficies a unir (Burke y McCaughey, 1995; Toledano y cols., 2001). La adhesión se logra principalmente a través de dos mecanismos:

a) Mecánico: este mecanismo de adhesión también se conoce como sistema de traba mecánica, y consiste en el entremezclado del adhesivo solidificado en las irregularidades del adherente. Da lugar a la adhesión mecánica, que puede ser macromecánica o micromecánica según la magnitud de las irregularidades creadas en las superficies de contacto (De Munck y cols., 2005; Albaladejo, 2006).

b) Químico: explica la adhesión mediante la generación de enlaces químicos entre adhesivo y adherente. Se consigue mediante la atracción de los átomos y/o moléculas entre dos o más sustratos, a través de enlaces iónicos, covalentes y enlaces secundarios como podrían ser las fuerzas de Van der Waals, fuerzas polares, puentes de hidrógeno, quelación y fuerzas de dispersión (De Munck y cols., 2005; Albaladejo, 2006).

En Odontología suele utilizarse con relativa frecuencia el término adhesión en referencia a uniones de tipo mecánico, donde la unión se produce solamente por medio de microrretención, sin que exista ninguna interacción química entre los sustratos. Éste es, por ejemplo, el tipo de unión que se configura entre el esmalte grabado y la resina fluida.

1.2.1. Factores que influyen sobre la adhesión

Las características de los sustratos que van a unirse influyen en gran medida en el resultado final de adhesión. Así, García Barbero y Kessler (1997) consideran determinantes las siguientes propiedades físicas:

-Tensión superficial y energía superficial. Los átomos constituyentes de un cuerpo poseen fuerzas electrostáticas que los atraen entre sí. Este fenómeno hace que en el interior del substrato exista una compensación de fuerzas, mientras que la parte externa está descompensada, manteniendo una energía no contrarrestada. En los líquidos, esta energía se llama tensión superficial y en los sólidos, energía superficial. Para que haya adhesión entre un líquido y un sólido debe haber un íntimo contacto entre las dos superficies, y para ello, la tensión superficial de líquido debe ser menor que la energía libre del sólido (Erickson, 1992; Asmussen y Peutzfeldt, 2005).

-Humectancia. Es la capacidad de un líquido para mojar un sólido. Depende directamente de las energías superficiales de cada uno de los substratos, ya que la tensión superficial tiende a mantener el líquido en forma de gota, mientras que la energía superficial del sólido tiende a que se extienda. La humectancia se valora midiendo el ángulo de contacto que forma la tangente a la gota con la superficie del sólido. Cuanto mayor es este ángulo, menos extendida está la gota y, por tanto, menor es la humectancia (Wu y Nancollas, 1997).

-Capilaridad. Fenómeno que se observa al contactar un líquido con un tubo de pequeño diámetro, que tiende a introducirse por él; también está directamente relacionado con la tensión superficial. Cuanto más baja sea ésta, mayor será la tendencia a introducirse por el capilar (Wu y Nancollas, 1997).

-Viscosidad. Toledano y cols. observaron que otras características de la resina, como puede ser la viscosidad, influirán también en el proceso de adhesión. Las resinas con baja viscosidad tendrán mayor fluidez y, por lo tanto, una mejor adaptación sobre la superficie aplicada (2003a).

Cada uno de estos factores posee una enorme importancia en el proceso de la adhesión dental. Los substratos con los que se ha trabajado (dentina y resina) tienen sus propias particularidades.

-Dentina. Posee un gran contenido en materia orgánica y agua. Tiene una baja energía superficial y es de naturaleza hidrofílica, ya que en su estructura hay una gran cantidad de túbulos que pueden actuar como capilares. Sin embargo, en su interior hay fluido dentinario con una determinada presión, que condiciona de forma determinante la posibilidad de penetración de la resina en su interior. Es importante destacar que el número y diámetro de los túbulos aumenta a medida que la dentina se acerca a la cámara pulpar. Como sustrato para la adhesión es mucho peor que el esmalte (Goldberg y cols., 2011).

-Resina. La resina que va a adherirse a las estructuras dentarias tiene que tener una tensión superficial y unas características de humectancia, capilaridad y fluidez que favorezcan esa unión. Para unirse a la dentina, donde el contenido de agua es elevado, deberán ser en lo posible hidrofílicas. No hay que olvidar que estas resinas deberán unirse también a las resinas compuestas, y que por lo tanto, sus características deberán permitir también esa unión (García Barbero y Kessler, 1997; Shawkat y cols., 2009; Koga y cols., 2011).

I.3. Sistemas adhesivos. Clasificación y características

Un sistema adhesivo es el conjunto de materiales que sirve para realizar todos los pasos de la adhesión del material restaurador al diente, como son la preparación de la superficie del esmalte y la dentina, adhesión química y/o micromecánica a esmalte y dentina y la adhesión química al material restaurador (Toledano y cols., 2003a). La incapacidad de las resinas compuestas para adherir directamente a los sustratos dentales, hizo que la aplicación de un sistema adhesivo fuera un paso intermedio indispensable en los procedimientos clínicos donde se utilizasen dichos materiales. El procedimiento adhesivo consta de tres componentes básicos:

1) Acondicionador ácido: tiene la finalidad de modificar química y morfológicamente la estructura del esmalte y la dentina para permitir a los siguientes materiales adherirse a dichas superficies mecánica y químicamente. Aunque se han investigado diferentes agentes acondicionadores (ácido maleico, cítrico, fosfórico y nítrico) a distintas concentraciones (ácido nítrico al 2,5%, maleico al 10%, cítrico al 10% y fosfórico del 10 al 37,5%), actualmente, el agente acondicionador más utilizado es el ácido ortofosfórico del 30 al 37,5% ya que produce un grabado eficiente del esmalte y la dentina (Vaidyanathan y Vaidyanathan, 2009).

2) Imprimador o primer: penetra y humedece todo el tejido descalcificado para facilitar el contacto de la resina adhesiva con el colágeno desmineralizado debido a su carácter hidrófilo. Los imprimadores consisten en un polímero disuelto en un solvente orgánico (HEMA, es la más frecuentemente utilizada). Sus funciones son mejorar la humectabilidad de la dentina acondicionada, mantener las fibras de colágeno separadas entre sí evitando su colapso y facilitar el paso de la resina adhesiva hacia el interior de la dentina descalcificada (Tittley y cols., 1995; Tani y cols., 1996; Perdigao y cols., 1997; Toledano y cols., 2001).

3) Resina: se disuelve con el imprimador y penetra en la dentina, sirviendo como puente entre las dos superficies a adherir, la dentina y el material restaurador. Además, proporciona una flexibilidad y resistencia adecuada a la zona de dentina infiltrada (Albaladejo, 2006).

Los inicios de la Odontología adhesiva datan de 1955 cuando Buonocore, mediante la aplicación de técnicas de adhesión industrial, postuló que el tratamiento de la superficie dental con grabado ácido podría mejorar la duración de la adhesión (Buonocore, 1955). Hacia 1960 se sugiere que la formación de los *tags* de resina era la causa principal de la adhesión de la resina al esmalte previamente grabado (Kugel y Ferrari, 2000). El grabado ácido en dentina permitió remover y acondicionar la capa superficial del barrillo dentinario, removiendo parte del contenido inorgánico y exponiendo la malla de colágeno para así aumentar la permeabilidad de

los túbulos dentinarios, que posteriormente serán infiltrados por el sistema adhesivo formando la llamada capa híbrida (Nakabayashi y cols., 1982). La formación de la capa híbrida es, en la actualidad, un mecanismo fundamental en el proceso de adhesión de la resina a la dentina (Nakabayashi y cols., 1991; Kugel y Ferrari, 2000; De Munck y cols., 2005; Albaladejo y cols., 2010; Sauro y cols., 2012). Sin embargo, no parece ser el único mecanismo; algunos estudios refieren que la desproteización de dentina desmineralizada rica en colágeno influye en gran medida en el proceso de adhesión (Gwinnett y cols., 1996; Rahal y cols., 2012).

Los adhesivos dentinarios se pueden clasificar atendiendo a numerosos criterios. La clasificación más comúnmente utilizada es la que se basa en el tratamiento dado a la dentina y la cronología de aparición de estos materiales en el mercado, separándolos en generaciones (Kugel y Ferrari, 2000). Sin embargo, esta clasificación no aclara de forma objetiva el número de pasos clínicos realizados durante la aplicación de éstos, ni tampoco como interactúan con el sustrato. Hoy en día, la manera más clara de clasificar los adhesivos es la establecida por Van Meerbeek y cols. (1998); dichos autores propusieron una clasificación basada en el modo de interacción con el sustrato, contemplando también el número de pasos clínicos requeridos para su aplicación. Debido a que cada clasificación aporta una visión diferente de los sistemas adhesivos, hemos considerado necesario exponer ambas clasificaciones.

I.3.1. Clasificación cronológica de los sistemas adhesivos (Kugel y Ferrari, 2000)

La **primera generación** de sistemas adhesivos se basó en el uso de dimetacrilatos de ácido glicerofosfórico (GMDP), para mejorar la unión de la resina al esmalte (Brudevold y cols., 1956). Más tarde, evolucionaría a la molécula bifuncional N-fenilglicil y glicidil metacrilato (NPG-GMA), pero la resistencia de unión era muy pobre, de 1 a 3 MPa (Kugel y Ferrari, 2000).

La **segunda generación** se enfocó hacia la mejora de los agentes de unión de los adhesivos; es así como a comienzos de la década de los 70 se incorporan ésteres

halofosforados, bisfenol glicidil metacrilato (bis-GMA) o hidroxietil metacrilato (HEMA), basando su acción en la unión iónica al calcio por los grupos clorofosfatos; sin embargo, la resistencia de unión seguía siendo muy baja, de 5 a 7 MPa, lo que provocaba la hidrólisis por exposición a la saliva causando microfiltraciones (Kugel y Ferrari, 2000).

En la **tercera generación**, a finales de los 70, se introduce el grabado ácido parcial de la dentina para modificar parcialmente el barrillo dentinario, incrementando así la permeabilidad dentinaria. La utilización de dos componentes como son: el imprimador y el adhesivo permitieron un incremento significativo de la fuerza de adhesión a la dentina entre 8 y 15 MPa; esto hizo que se eliminara la necesidad de preparaciones cavitarias retentivas para las restauraciones adhesivas, dando comienzo a la Odontología ultraconservadora (Kugel y Ferrari, 2000).

Con la **cuarta generación** de los sistemas adhesivos, en los años 80, se introdujo la técnica de grabado total, que permite la remoción completa del barrillo dentinario, grabando simultáneamente esmalte y dentina con la utilización de ácido fosfórico; sin embargo, la principal preocupación era evitar el colapso de las fibras colágenas expuestas en la capa de dentina desmineralizada y favorecer la formación de los *tags* de resina y ramificaciones laterales en los túbulos dentinarios que conforman la denominada capa híbrida, que es la zona de interdifusión dentina-resina, formada por la infiltración de monómeros del imprimador y el adhesivo en la red de fibras colágenas expuestas por la acción del acondicionador ácido sobre la dentina peri e intertubular (Nakabayashi y cols., 1982). Entre las ventajas que ofrece el grabado total mediante ácido fosfórico se encuentran: incrementar el área de contacto superficial, aumentar la energía superficial para mejorar la humectabilidad sobre la superficie del adherente, facilitar la formación de los *tags* de resina y aumentar la retención micromecánica, logrando valores de adhesión de aproximadamente 31 MPa (Tsujimoto y cols., 2010; Van Meerbeek y cols., 2010).

La **quinta generación** permitió simplificar el procedimiento clínico de aplicación del sistema adhesivo, reduciendo relativamente el tiempo de trabajo combinando el imprimador y el

adhesivo dentro de una única solución aplicada tras el grabado con ácido ortofosfórico al 37% del esmalte y la dentina, creando una retención micromecánica de la resina al sustrato desmineralizado (Albaladejo y cols., 2010; Tsujimoto y cols., 2010; Van Meerbeek y cols., 2010), lo cual demostró valores de resistencia de adhesión tanto a esmalte como a dentina de aproximadamente 29 MPa (Kugel y Ferrari, 2000; Van Meerbeek y cols., 2010).

La evolución de los sistemas adhesivos se enfocó hacia la simplificación de los procedimientos clínicos, tiempos de trabajo y sensibilidad de la técnica, desarrollándose así, a mediados de la década de los 90, los sistemas adhesivos de **sexta generación** o sistemas autograbadores. Éstos permitieron eliminar el paso del grabado ácido al realizar el grabado y acondicionamiento simultáneo del sustrato dentinario para recibir el adhesivo; para ello se emplearon imprimadores autograbantes que producían una retención micromecánica en los tejidos duros, permitiendo la unión directamente sobre el barrillo dentinario que cubre la dentina (Sensi y cols., 2007; Bradna y cols., 2008; Ikemura y cols., 2009). Este nuevo sistema se diferencia de los adhesivos de grabado y lavado en varios aspectos como son su pH inicial, el tipo de monómeros acídicos, el número de frascos y pasos, la concentración de agua y solventes y la hidrofiliidad de la capa de unión (Osorio y cols., 2008; Moura y cols., 2009; Toledano y cols., 2012b). Se observaron valores de adhesión de aproximadamente 26 MPa, para los autograbadores de dos pasos (Van Meerbeek y cols., 2010). Los adhesivos autograbadores están compuestos de mezclas acuosas de monómeros funcionales acídicos hidrofílicos, generalmente ésteres del ácido fosfórico, con un pH de 1.5 a 2.5, un poco más alto que los geles de ácido fosfórico (Perdigao y cols., 2009; Reis y cols., 2013).

Los adhesivos autograbadores se pueden clasificar según su capacidad de penetración en el barrillo dentinario y en la profundidad de desmineralización, que difiere en algunos cientos de nanómetros entre los diferentes tipos de sistemas autograbadores. Por lo tanto, los sistemas autograbadores pueden ser “ultrasuaves” con $\text{pH} > 2.5$, que conforman la denominada capa de interacción nanométrica, los autograbadores “suaves” con $\text{pH} \approx 2$ y con profundidades de aproximadamente $1 \mu\text{m}$, los autograbadores “moderadamente fuertes” con pH entre 1 y 2 y que presentan profundidades de interacción entre 1 y $2 \mu\text{m}$ y, por último,

los “fuertes” con $\text{pH} \leq 1$. Los llamados “suaves” presentan mayor resistencia de adhesión a esmalte y dentina si los comparamos con los de pH moderado o agresivo (Pashley y Tay, 2001; Van Meerbeeck y cols., 2011; Toledano y cols., 2012a). Nakabayashi y Takarada (1992) desarrollan los imprimadores autograbadores a partir de soluciones de HEMA y posteriormente se incorporó el TEGDMA y MDP. Las grandes ventajas de estos sistemas adhesivos autograbadores están en la simplificación del proceso adhesivo, disminución de los tiempos de trabajo y de la sensibilidad postoperatoria (Da Silva y cols., 2013; Ozer y Blatz, 2013).

Los sistemas adhesivos de **séptima generación** son adhesivos autograbadores de un sólo paso *all in one*; en estos sistemas adhesivos se ha conseguido una simplificación de la técnica que permite mantener en una única solución los componentes de monómeros ácidos hidrofílicos, solventes orgánicos y agua (Pashley y Tay, 2001; Ansari y cols., 2008). Con la utilización de estos sistemas adhesivos se han observado valores de adhesión de aproximadamente 20 MPa (Van Meerbeeck y cols., 2010). Las ventajas de estos sistemas adhesivos son la simplificación del procedimiento, la disminución de la sensibilidad de la técnica, la desmineralización e infiltración simultánea, la disminución en el tiempo de trabajo y en la sensibilidad postoperatoria; sin embargo, los resultados en cuanto a la resistencia de unión y nanofiltración ponen en duda la eficacia clínica de los sistemas adhesivos de séptima generación debido a su inestabilidad en el tiempo (Van Landuyt y cols., 2009; Osorio y cols., 2010; Ozer y Blatz, 2013).

En la **tabla 1** se resumen las principales incorporaciones de cada generación.

Tabla 1: Generaciones de los sistemas adhesivos y características más importantes que supusieron un avance respecto a la anterior.

Generaciones adhesivas	Característica más importante
Primera	GMDP para mejorar unión acrílico y esmalte
Segunda	Bis-GMA y HEMA
Tercera	Grabado parcial dentina, imprimador y adhesivo

Generaciones adhesivas	Característica más importante
Cuarta	Grabado total y capa híbrida
Quinta	Imprimador y resina en un sólo paso
Sexta	Imprimadores autograbadores
Séptima	Adhesivos autograbadores <i>all in one</i>

1.3.2. Clasificación de los sistemas adhesivos según los pasos clínicos y el modo de interacción con el substrato (Van Meerbeek y cols., 1998)

En la actualidad ésta es la forma más útil de clasificar los adhesivos, ya que tiene en cuenta las estrategias de adhesión empleadas en la clínica. Van Meerbeek y cols., en 1998, clasificaron los sistemas adhesivos en los siguientes grupos:

1.3.2.1. Adhesivos que eliminan el barrillo dentinario (grabado total)

Estos adhesivos, también conocidos como sistemas de grabado total, acondicionan la dentina con un ácido que remueve totalmente el barrillo dentinario (Van Meerbeek y cols., 1998).

1.3.2.1.1. ADHESIVOS DE TRES PASOS

Son sistemas que constan de tres componentes que se dispensan por separado. Responden al modelo tradicional del procedimiento adhesivo a dentina y en su mecanismo de acción están basados la mayoría de los mecanismos utilizados actualmente (Van Meerbeek y cols., 1998). Requieren tres pasos consecutivos: grabado ácido, imprimación y aplicación de la resina adhesiva. El grabado ácido remueve el barrillo dentinario, desmineraliza la capa superficial de la dentina, abre

los túbulos dentinarios y aumenta las microporosidades de la dentina intertubular, permitiendo que los imprimadores, que son sustancias hidrofílicas, actúen preparando la dentina para su interacción con el adhesivo (Nakabayashi y cols., 1982; Toledano y cols., 1999).

Los imprimadores transforman la superficie dental hidrofílica en hidrofóbica para conseguir así la unión de la resina adhesiva (con carácter hidrófobo). Para ello contienen monómeros polimerizables con propiedades hidrofílicas, por ejemplo el HEMA, disueltos en acetona, agua y/o etanol, que sirven como vehículo para transportar los monómeros a través del tejido desmineralizado. Mientras que el HEMA es responsable de mejorar la humectabilidad de la dentina y promover la expansión de la malla de colágeno, los solventes son capaces de desplazar el agua de la superficie dentinaria y preparar la malla de colágeno para la posterior infiltración de la resina adhesiva (Carvalho y cols., 2003).

El tercer paso consiste en la aplicación de una resina adhesiva sobre la superficie; los monómeros hidrofóbicos penetran no sólo en los espacios interfibrilares de la malla de colágeno sino también en los túbulos dentinarios. Tras la infiltración, estos monómeros son polimerizados *in situ* formando la capa híbrida y los *tags* de resina, que proporcionarán la retención mecánica a la restauración y que se unirán químicamente a la resina compuesta aplicada posteriormente (Van Meerbeek y cols., 1993).

El resultado de este procedimiento de tres pasos es lo que se llama hibridación o formación de la capa híbrida (Nakabayashi y cols., 1982) o zona de interdifusión (Van Meerbeek y cols., 1993) y la formación de los *tags* de resina.

I.3.2.1.2. ADHESIVOS DE DOS PASOS

En el primer paso se aplica un acondicionador ácido que posteriormente se lava con la consiguiente eliminación del barrillo dentinario. En el segundo paso, se aplica a la vez el imprimador y la resina adhesiva. Estos adhesivos también se conocen como autoimprimadores ya

que combinan el imprimador y la resina (Toledano y cols., 2001). Básicamente, el actual mecanismo de adhesión empleado por estos sistemas simplificados no difiere del realizado por sus precursores de tres pasos.

Estos sistemas de adhesión necesitan que se realice una técnica de adhesión húmeda al no realizarse el paso de imprimación de forma independiente, y así poder evitar que el colágeno desmineralizado se colapse impidiendo la infiltración completa del adhesivo. El control clínico del grado de humedad necesario es muy difícil y, por lo tanto, la técnica se considera bastante sensible (Frankenberger y cols., 2000; Jayaprakash y cols., 2010).

I.3.2.1.3. ACTUALIZACIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LA EFICACIA ADHESIVA RESINA-DENTINA EMPLEANDO ADHESIVOS DE GRABADO TOTAL DE DOS Y TRES PASOS

En la **tabla 2**, hemos realizado una revisión bibliográfica, en los últimos años, sobre los valores de adhesión que se obtienen al emplear los distintos sistemas adhesivos de grabado total en dentina.

En general, los adhesivos de grabado total en tres pasos se consideraban el “*gold standar*” en adhesión. Sin embargo, debido a que hoy en día se tiende a simplificar la técnica, éstos han caído prácticamente en desuso y han sido reemplazados por los adhesivos autograbadores de dos pasos ya que, aunque los adhesivos de grabado total de dos pasos son los de elección para la adhesión a esmalte, tienen un peor comportamiento que los autograbadores de dos paso en dentina.

Por esa razón hay muy pocos artículos actuales que comparen valores de resistencia adhesiva con adhesivos de grabado total en tres pasos, sino que las líneas de investigación más novedosas van encaminadas a buscar mejores valores de adhesión simplificando la técnica.

Tabla 2. Revisión bibliográfica de los artículos referentes a los valores de fuerza de adhesión de los sistemas adhesivos de grabado total a dentina.

Autor	Título	Año	Adhesivo estudiado	Resultados y Conclusiones
<i>Baracco y cols.</i>	Effect of thermal aging on the tensile bond strength at reduced areas of seven current adhesives.	2013	Grabado total 2 pasos (Adper Scotchbond 1 XT y XP Bond) Autograbador 2 pasos (Adper Scotchbond SE y Filtek Silorane Adhesive System) Autograbador 1 paso (G-Bond, Xeno V y Bond Force)	El envejecimiento térmico produjo una disminución de los valores de fuerza de adhesión en todos los adhesivos testados. Los adhesivos de autograbado en un paso obtuvieron los valores de fuerza de adhesión más bajos tras el envejecimiento térmico y su capacidad adhesiva se redujo significativamente tras el termociclado.
<i>Eren y cols.</i>	Three different adhesive systems; three different bond strength test methods.	2013	Grabado total 2 pasos (Prime and Bond NT) Autograbador 2 pasos (Clearfill SE) Autograbador 1 paso (G-Bond)	El adhesivo autograbador de dos pasos obtuvo mayores valores de adhesión que el de grabado total de dos pasos y el de autograbado de un paso, el cual obtuvo los peores valores.
<i>Ferreira y cols.</i>	Influence of solvents and composition of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems on the nanoleakage within the hybrid layer.	2013	Grabado total 2 pasos (Adper Scotchbond 1XT) Autograbador 2 pasos (AdheSE) Autograbador 1 paso (XenoV y One Coat Bond)	Los adhesivos de autograbado de dos pasos obtuvieron los mejores valores de nanofiltración comparados con los adhesivos de grabado total en dentina, lo cual indica un mejor comportamiento de estos adhesivos en restauraciones en dentina y una mejor adhesión a lo largo del tiempo.
<i>Ozer y Blatz</i>	Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry.	2013	Revisión	Los adhesivos de autograbado de un paso obtuvieron los peores valores de adhesión. Los adhesivos de grabado total son los que mejor funcionan cuando el sustrato sobre el que adherimos es esmalte y los de autograbado de dos pasos son los de elección para adhesión a dentina.
<i>Mendez y cols.</i>	Effect of water storage on microtensile bond strength of a two-step self-etch adhesive and a two-step etch-and-rinse adhesive.	2012	Grabado total 2 pasos (Adper Single Bond 2) Autograbador 2 pasos (Adper Scotchbond SE)	El almacenamiento en agua durante 1 año sólo afectó a los valores de adhesión del adhesivo de grabado total en dos pasos y no afectó al de autograbado en dos pasos.

Autor	Título	Año	Adhesivo estudiado	Resultados y Conclusiones
<i>Feitosa y cols.</i>	Effect of a new method to simulate pulpal pressure on bond strength and nanoleakage of dental adhesives to dentin.	2012	Grabado total 3 pasos (Scotchbond Multi-Purpose) Grabado total 2 pasos (Single Bond 2) Autograbador 2 pasos (Clearfil SE) Autograbador 1 paso (Clearfil S3)	Los adhesivos de un paso obtuvieron los peores valores de adhesión bajo presión pulpar simulada, mientras que los adhesivos de dos pasos (grabado total y autograbadores) mostraron valores similares y los de tres pasos obtuvieron las fuerzas de adhesión estables bajo dicha presión.
<i>Erickson y cols.</i>	The role of etching in bonding to enamel: a comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems.	2009	Grabado total 2 pasos (Adper Single Bond Plus) Autograbado	A pesar de que algunos sistemas de autograbado permiten una unión química al sustrato, esto no consigue igualar los valores de adhesión obtenidos con el uso del grabado con ácido ortofosfórico en los adhesivos de grabado total en esmalte.
<i>Breschi y cols.</i>	Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface.	2008	Revisión	Los adhesivos de un sólo paso han demostrado ser los menos duraderos a lo largo del tiempo, mientras que los adhesivos de grabado total en tres pasos y de autograbado en dos pasos han demostrado el mejor rendimiento.
<i>Peumans y cols.</i>	Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials.	2005	Revisión	Los adhesivos de grabado total en tres pasos y de autograbado en dos pasos mostraron una buena eficacia clínica predecible en el tiempo. La eficacia clínica de los de grabado total en dos pasos fue menos favorable, mientras que se observó un rendimiento clínico ineficaz con los autograbadores de un paso.
<i>De Munck y cols.</i>	A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results.	2005	Revisión	Una comparación de los adhesivos contemporáneos reveló que los adhesivos de grabado total de tres pasos siguen siendo el "gold standar" en términos de durabilidad. Sólo los adhesivos de autograbado en dos pasos se aproximan al "gold standar" y además presentan algunos beneficios adicionales.

1.3.2.2. Adhesivos que disuelven el barrillo dentinario (autograbadores)

Son sistemas que disuelven el barrillo dentinario, mezclan de forma homogénea el barrillo con el *primer*, y simultáneamente desmineralizan la superficie del sustrato (Van Meerbeek y cols., 1992). Como no son lavados, el barrillo se incorpora al proceso de adhesión reduciéndose así los problemas asociados a la sensibilidad de la técnica (Fritz y Finger, 1999; Toledano y cols., 2001).

1.3.2.2.1. ADHESIVOS DE DOS PASOS

Estos adhesivos autograbadores proporcionan grabado ácido y adhesión simultánea del esmalte y la dentina, dando lugar a una simplificación del procedimiento clínico de aplicación de estos materiales, debido a la reducción en el número de pasos y a la falta de necesidad de un lavado tras el grabado. Por todo ello, el uso de los sistemas autograbadores parece ser prometedor para evitar problemas clínicos como el colapso de las fibras de colágeno debido al secado excesivo tras el grabado ácido de la dentina o el fenómeno de sobremojado resultante de una eliminación insuficiente de la humedad de la superficie (Tay y cols., 1994; Tay y Pashley, 2001). Además, el problema presentado por los sistemas adhesivos de grabado total al producir una desmineralización, por parte de los monómeros ácidos, mayor que la infiltración realizada por los monómeros hidrofílicos, se ha solventado en gran medida debido a que estos sistemas desmineralizan superficialmente la dentina y de manera simultánea infiltran la red de fibras de colágeno expuestas (Toledano y cols., 2001; Osorio y cols., 2003). Sin embargo, diversos estudios han comprobado que los adhesivos autograbadores tampoco infiltran de forma completa las fibras de colágeno expuestas, sobre todo aquellos con una menor capacidad de grabado (Carvalho y cols., 2005; Perdigão y cols., 2008); esto implica que las MMPs, expuestas y activadas por los adhesivos de grabado total y de autograbado (Mazzoni y cols., 2006), degradarán el colágeno que no haya sido infiltrado por la resina lo que provocará la degradación de la interfase adhesiva resina-dentina a lo largo del tiempo (De Munck y cols., 2009; Breschi y cols., 2010).

Dentro de este grupo se encuentran los adhesivos ultrasuaves, que presentan una reducida habilidad para disolver el barrillo dentinario y desmineralizar la dentina superficial adyacente, creando así una característica capa híbrida nanométrica. A pesar de ello, estos adhesivos han obtenido muy buenos valores de adhesión en dentina (Peumans y cols., 2005; Tachibana y cols., 2008; Brulat y cols., 2009; Celik y cols., 2010; Odabas y cols., 2013); ello se debe a la presencia de monómeros funcionales específicos en su composición, como son el 10-MDP, 4-META y fenil-P, que permiten una unión química a la dentina. Estos monómeros poseen grupos carboxilo y fosfato que se unen iónicamente al calcio de la hidroxiapatita. Se ha investigado que la adhesión química producida por el 10-MDP no sólo es la más efectiva sino también la más estable en un ambiente acuoso (Sano y cols., 1999; Yoshida y cols., 2004).

I.3.2.2.2. ADHESIVOS DE UN PASO (*ALL-IN-ONE*)

Incorporan en el mismo recipiente los monómeros ácidos, hidrofílicos e hidrofóbicos. Están compuestos por mezclas acuosas de monómeros ácidos funcionales, como el ácido ortofosfórico o ésteres del ácido carboxílico, con un pH tan bajo como los ácidos en gel. Por lo tanto, el agua es un componente esencial en estos adhesivos ya que interviene en la ionización de la fracción ácida. Estas características hacen que la eficacia y la estabilidad adhesiva de los *all in one* se vea comprometida (Toledano y cols., 2003b) y, por lo tanto, obtenga fuerzas de adhesión inferiores a las obtenidas con los adhesivos de dos y tres pasos (De Munck y cols., 2005; Toledano y cols., 2006; Sarr y cols., 2010; Meharry y Moazzami, 2013; Tian y cols., 2013). Los adhesivos *all in one* suaves mostraron un mayor grado de polimerización y una mayor resistencia a la degradación de la unión resina-dentina cuando se compararon con otros más ácidos (Toledano y cols., 2012a).

Uno de los principales inconvenientes de los adhesivos de un paso está relacionado con su excesiva hidrofilia, que hace que la capa adhesiva sea más propensa a atraer el agua que se encuentra intrínsecamente en el substrato dentinario (Pashley y Tay, 2001). Debido a esta afinidad por el agua, estos adhesivos actúan como una membrana semipermeable que,

incluso después de la polimerización, permite movimientos de agua desde el substrato a la capa adhesiva (Tay y cols., 2002). Esto hace que, además de producirse una disminución en la fuerza de adhesión a la resina, dicha permeabilidad de la capa adhesiva contribuya en la hidrólisis de los polímeros de resina y produzca la consecuente degradación de la unión dentina-resina a lo largo del tiempo (Hashimoto y cols., 2003).

Con respecto a esto, es importante tener en cuenta la presencia y concentración de HEMA en los adhesivos. El HEMA es un monómero resinoso hidrófilo que se encuentra en la composición de la gran mayoría de los sistemas adhesivos dentales para mejorar su humectabilidad e hidrofilia (Toledano y cols., 2004). Sin embargo, el bajo peso molecular y la alta hidrofilia del HEMA pueden producir la absorción de agua por la capa de adhesivo, disminuyendo así sus propiedades mecánicas y su estabilidad en el tiempo (Walter y cols., 2013). Por otra parte, debido a su baja reactividad, quedan monómeros sin reaccionar en la capa de adhesivo, que pueden difundir a través de los túbulos dentinarios y producir un efecto citotóxico sobre las células de la pulpa (Collares y cols., 2011). Por ello, en un intento de hacer los adhesivos menos hidrofílicos y evitar estos inconvenientes, se desarrollaron los adhesivos de un paso libres de HEMA, como por ejemplo el adhesivo G-Bond (GC, Tokyo, Japón). Distintas investigaciones han demostrado que los resultados obtenidos con un adhesivo de un paso libre de HEMA fueron clínicamente aceptables (Burrow, 2011; Ikemura y cols., 2011; Van Landuyt y cols., 2011; 2013; Feitosa y cols., 2013).

I.3.2.2.3. ACTUALIZACIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LA EFICACIA ADHESIVA RESINA-DENTINA EMPLEANDO ADHESIVOS AUTOGRABADORES DE DOS Y UN PASO

En la **tabla 3**, hemos realizado una revisión bibliográfica, en los últimos años, sobre los valores de adhesión obtenidos al emplear los distintos sistemas adhesivos autograbadores en dentina. En general, aunque es difícil compararlos, ya que dentro de cada grupo existen grandes diferencias en la composición de los adhesivos que determinan su comportamiento en dicho procedimiento adhesivo, podemos concluir que los adhesivos

de autograbado en dos pasos son los que proporcionan la mejor eficacia adhesiva si los comparamos con los adhesivos de grabado total de dos pasos y los de autograbado de un paso y, además, ofrecen una mayor estabilidad de dicha interfase a lo largo del tiempo. Los adhesivos de grabado total de dos pasos son los de elección para la adhesión a esmalte ya que tienen un peor comportamiento que los de autograbado de dos pasos en dentina, mientras que los adhesivos de autograbado en un paso obtienen los peores valores de adhesión a dentina y una menor estabilidad de la interfase a lo largo del tiempo, debido a lo que hemos indicado anteriormente.

Tabla 3: Revisión bibliográfica de los artículos referentes a los valores de fuerza de adhesión de los sistemas adhesivos autograbadores a dentina.

Autor	Título	Año	Adhesivo estudiado	Resultados y Conclusiones
<i>Baracco y cols.</i>	Effect of thermal aging on the tensile bond strength at reduced areas of seven current adhesives.	2013	Grabado total 2 pasos (Adper Scotchbond 1 XT y XP Bond) Autograbador 2 pasos (Adper Scotchbond SE y Filtek Silorane Adhesive System) Autograbador 1 paso (G-Bond, Xeno V y Bond Force)	El envejecimiento térmico produjo una disminución de los valores de fuerza de adhesión en todos los adhesivos testados. Los adhesivos de autograbado en un paso obtuvieron los valores de fuerza de adhesión más bajos tras el envejecimiento térmico y su capacidad adhesiva se redujo significativamente tras el termociclado.
<i>Eren y cols.</i>	Three different adhesive systems; three different bond strength test methods.	2013	Grabado total 2 pasos (Prime and Bond NT) Autograbador 2 pasos (Clearfill SE) Autograbador 1 paso (G-Bond)	El adhesivo autograbador de dos pasos obtuvo mayores valores de adhesión que el de grabado total de dos pasos y el de autograbado de un paso, el cual obtuvo los peores valores.
<i>Ferreira y cols.</i>	Influence of solvents and composition of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems on the nanoleakage within the hybrid layer.	2013	Grabado total 2 pasos (Adper Scotchbond 1XT) Autograbador 2 pasos (AdheSE) Autograbador 1 paso (XenoV y One Coat Bond)	Los adhesivos de autograbado de dos pasos obtuvieron los mejores valores de nanofiltración comparados con los adhesivos de grabado total en dentina, lo cual indica un mejor comportamiento de estos adhesivos en restauraciones en dentina y una mejor adhesión a lo largo del tiempo.

Autor	Título	Año	Adhesivo estudiado	Resultados y Conclusiones
<i>Ozer y Blatz</i>	Self-etch and etch and rinse adhesive systems in clinical dentistry.	2013	Revisión	Los adhesivos de autograbado de un paso obtuvieron los peores valores de adhesión. Los adhesivos de grabado total son los que mejor funcionan cuando el sustrato sobre el que se adhiere es esmalte y los de autograbado de dos pasos son los de elección para adhesión a dentina.
<i>Tian y cols.</i>	The durability of three self-etch adhesives bonded to dentin.	2013	Autograbador 2 pasos (Clearfill SE) Autograbador 1 paso (Adper Promp y G-Bond)	Todos los adhesivos de autograbado testados estuvieron influenciados por el envejecimiento con agua; sin embargo, el adhesivo de dos pasos mostró una mayor durabilidad que los adhesivos de un sólo paso.
<i>Feitosa y cols.</i>	Effect of a new method to simulate pulpal pressure on bond strength and nanoleakage of dental adhesives to dentin.	2012	Grabado total 3 pasos (Scotchbond Multi-Purpose) Grabado total 2 pasos (Single Bond 2) Autograbador 2 pasos (Clearfil SE) Autograbador 1 paso (Clearfil S3)	Los adhesivos de autograbado de un paso obtuvieron los peores valores de adhesión bajo presión pulpar simulada, mientras que los adhesivos de dos pasos (grabado total y autograbadores) obtuvieron fuerzas de adhesión estables bajo dicha presión.
<i>Mendez y cols.</i>	Effect of water storage on microtensile bond strength of a two-step self-etch adhesive and a two-step etch-and-rinse adhesive.	2012	Grabado total 2 pasos (Adper Single Bond 2) Autograbador 2 pasos (Adper Scotchbond SE)	El almacenamiento en agua durante 1 año sólo afectó a los valores de adhesión del adhesivo de grabado total en dos pasos y no afectó al de autograbado en dos pasos.
<i>Sabatini</i>	Effect of phosphoric acid etching on the shear bond strength of two self-etch adhesives.	2012	Autograbador 2 pasos (FL Bond II) Autograbador 1 paso (Beauti Bond)	La aplicación de ácido ortofosfórico previo a la aplicación de un adhesivo de autograbado de dos pasos tuvo un efecto adverso en la fuerza de adhesión a dentina; sin embargo, mejoró la fuerza de adhesión a esmalte.

Autor	Título	Año	Adhesivo estudiado	Resultados y Conclusiones
Vanajasan y cols.	Factors affecting the bond strength of self-etch adhesives: A meta-analysis of literature.	2011	Revisión	Los adhesivos de autograbado de dos pasos obtuvieron un mejor rendimiento <i>in vitro</i> en comparación con los de un paso. No obstante, ciertos factores como son el tipo de dentina, el lugar y el área de adhesión afectan a la fuerza de adhesión de los distintos sistemas adhesivos.

1.3.2.3. Adhesivos que modifican el barrillo dentinario

Se trata de una resina adhesiva mezclada con ácidos débiles, que se aplican sobre la dentina y el barrillo dentinario. Esta resina modifica el barrillo dentinario para poder infiltrarlo y acceder a la dentina subyacente. Mediante este proceso no se produce la exposición tradicional de las fibras de colágeno. El fundamento de estos adhesivos consiste en considerar el barrillo dentinario como una barrera natural contra la penetración de bacterias, al mismo tiempo que dificulta la salida del líquido tubular, lo que podría alterar la eficacia de la técnica adhesiva (Toledano y cols., 2003a).

Este grupo de materiales incluyen básicamente a los antiguos sistemas adhesivos que requerían un grabado ácido selectivo del esmalte. Muchos de estos adhesivos ya no se utilizan debido a su baja eficacia clínica (Toledano y cols., 2003a).

I.4. Procesado de la dentina mediante láser

I.4.1. Introducción al láser y sus propiedades

El láser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) se puede definir como un dispositivo que utiliza la emisión estimulada de radiación en un medio apropiado, llamado medio activo, para generar un haz de luz caracterizado por su coherencia temporal y espacial, monocromaticidad y elevada direccionalidad (Schawlow y Townes, 1958). Esta radiación electromagnética es emitida en longitudes de onda entre 100 nm y 1 mm. Existe una gran cantidad de medios activos, sólidos, líquidos y gaseosos, que producen emisión estimulada de luz. Dependiendo del medio activo, la emisión se produce en diferentes longitudes de onda, lo que hace que hoy en día dispongamos de fuentes láser en cualquier zona del espectro. En el caso de los láseres empleados para la realización de esta tesis, los medios activos tanto del Er:YAG como del Ti:Zafiro son medios sólidos produciéndose la emisión, a 2940 y 790 nm, respectivamente, y por tanto, ambos en el infrarrojo.

Aparte de la longitud de onda, los láseres poseen otras propiedades físicas que determinan de una u otra forma su aplicación tecnológica. Entre ellas, las más relevantes son, probablemente, el tipo de emisión en continuo o de forma pulsada (y, en este caso, la duración de los pulsos), y la potencia de la emisión, es decir, la cantidad de energía que porta la emisión por unidad de tiempo. En nuestro caso, dado que se han utilizado láseres de emisión pulsada, resulta conveniente describir los distintos tipos existentes en función de la duración de los pulsos. En la **Tabla 4** se presentan los tipos de láseres más habituales con la duración de sus emisiones. La duración del pulso es un parámetro muy importante cuando el láser se emplea en el procesado de materiales, como es el caso de esta investigación. En los próximos apartados describiremos la influencia de este parámetro en la interacción con la dentina.

Tabla 4: Tipos de láseres más habituales con su longitud de onda y duración temporal de la emisión.

Tipo de láser	Longitud de onda	Duración del pulso
Argón	488/514 nm	CW
He-Ne	633 nm	CW
CO ₂	10.6 μm	CW o pulsado
Diodo	370-2200 nm	CW o pulsado
Rubí	694 nm	1-250 μs
Nd:YAG	1064 nm	100 ns-250 μs
Ho:YAG	2120 nm	100 ns-250 μs
Er,Cr:YSGG	2780 nm	100 ns-250 μs
Er:YAG	2940 nm	100 ns-250 μs
Nd:YAG	1064 nm	30-100 ps
Ti:Zafiro	790 nm	10 fs-100 ps

1.4.2. El láser en Odontología

El desarrollo del láser comenzó en la década de los 50 y no puede atribuirse a una sola persona; han sido muchos los físicos que, desde el plano teórico y práctico, han contribuido a su desarrollo.

El procedimiento físico en el que se basa el láser – la emisión estimulada de radiación- fue expuesto teóricamente por Einstein en 1916. Su publicación sobre la emisión estimulada se considera la base conceptual de la amplificación óptica, estableciéndose así los fundamentos físicos para el desarrollo de los láseres y de sus predecesores los máseres (Sulewski, 2000).

Pasaron varias décadas hasta que, en el inicio de los años cincuenta, tres científicos (Townes, Basov y Prokhorov) construyeron un amplificador utilizando la emisión estimulada de radiación en el campo de las microondas denominado MÁSER (por el acrónimo *Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*). Este dispositivo es similar al láser, pero amplifica y genera microondas y ondas de radio que ocupan la banda de 1 a 10^3 mm. Su contribución fue internacionalmente reconocida cuando se les otorgó el premio Nobel de física en 1964 por su publicación: “Los trabajos fundamentales en el campo de la electrónica cuántica, que condujeron a la construcción de osciladores y amplificadores basados en los principios de los máser-láser”.

En 1958, dos científicos estadounidenses (Schawlow y Townes) describieron por primera vez los principios de funcionamiento del láser, dándole ya su nombre. En 1960 el físico estadounidense Theodore Maiman, construyó el primer láser utilizando como medio activo el rubí sintético, que emitía una luz de 694 nm.

Un año más tarde se diseñó la primera generación de láseres que utilizaban distintos tipos de gases como medio activo; el láser de Helio-Neón (636 nm).

Los primeros resultados sobre las aplicaciones del láser en Odontología aparecieron en 1964 cuando Stern y Sognaes estudiaron los efectos del láser de rubí sobre esmalte y dentina, si bien estos primeros resultados no fueron concluyentes en su inicio.

La primera mención de la utilización *in vivo* de un láser sobre la superficie dental fue en el año 1965, cuando el Dr. Leon Goldman (dermatólogo que realizó múltiples investigaciones sobre los efectos del láser en el campo de la dermatología) empleó en su hermano Bernard (que era dentista) el láser de rubí (Goldman y cols, 1963a; 1963b). Según estos ensayos clínicos la aplicación de un par de pulsos del láser de rubí sobre la superficie dental no produjo dolor y únicamente observaron pequeños daños en la superficie irradiada (Goldman y cols., 1964; 1965).

En la década de los sesenta se diseñaron numerosos aparatos láser tales como los de Nd:YAG, los láseres de colorante y sobre todo el de CO₂; en ese momento se comenzaron a asentar las bases tanto de sus indicaciones como de los mecanismos de acción en los tejidos blandos; las primeras aplicaciones se realizaron fundamentalmente en cirugía y dermatología.

Los primeros resultados sobre la aplicación del láser de Nd:YAG en Odontología se obtuvieron en un estudio *in vitro* por Yamamoto y Ooya (1974) en el que se demostró que este tipo de láser era eficaz para aumentar la resistencia del esmalte al ataque ácido. La década de los setenta fue sin duda la del desarrollo de las aplicaciones del láser especialmente en el campo de la Medicina.

En 1985, se publicaron varios artículos en los que se describía la remoción de tejido dental careado utilizando un láser de Nd:YAG oftalmológico modificado (Myers y Myers, 1985a; 1985b). Otros tipos de láseres han aparecido posteriormente. Así, constan las aplicaciones en odontología del láser de Er:YAG sobre los tejidos duros dentales que se iniciaron en 1988 (Hibst y cols., 1988) y el de Er,Cr:YSGG que apareció más tardíamente (Eversole y Rizoiu, 1995).

En 1993, Niemz y cols. fueron los primeros en proponer la aplicación de láseres de pulso ultracorto para evitar los efectos térmicos sobre la estructura dental. Con la utilización del láser de ps se obtuvo una ablación de mayor calidad (Niemz, 1994; 1995b; Willms y cols, 1996).

El láser de Titanio-Zafiro (Ti:Zafiro) fue introducido en 1986 por Moulton. Éste ha sido posteriormente utilizado en estudios experimentales sobre los tejidos dentales en Odontología (Kohns y cols., 1997; Serbin y cols., 2002). En los últimos años, una de las líneas de desarrollo de la tecnología es la producción de fuentes láser pulsadas de alta intensidad, en particular fuentes que producen pulsos extremadamente cortos, por debajo del ps (10^{-12} s). Estos pulsos láser, amplificados hasta alcanzar energías del orden del mJ y focalizados convenientemente sobre la superficie de los materiales, permiten la ablación (eliminación de material) de esas superficies con extremada precisión, reproducibilidad y con daños colaterales en el material adyacente incomparablemente más leves que con cualquier otra fuente térmica, o proceso químico o mecánico.

1.4.3. Láseres de Erblio (Er:YAG y Er,Cr:YSGG)

1.4.3.1. Evolución de los láseres de Erblio

Los láseres de Er:YAG y de Er,Cr:YSGG son el resultado de investigaciones centradas en conseguir una longitud de onda que sea bien absorbida por los tejidos duros dentarios. Mediante estudios de fotoabsorción se ha determinado que cuando un láser emite el haz de luz con una longitud de onda de 2700-3000 nm es bien absorbido por la dentina, el hueso y por el agua. Los primeros artículos científicos publicados acerca de la utilización del láser de Er:YAG datan de 1989 y confirmaron las expectativas que se tenían sobre su posible utilización en Odontología (Hibst y Keller, 1989; Keller y Hibst, 1989). A partir de entonces, se desarrollan numerosos trabajos de investigación que describen y delimitan las indicaciones, ventajas e inconvenientes de los mismos (**Tabla 5**) y los efectos que podrían tener sobre las fuerzas de adhesión de las resinas compuestas a las superficies dentinarias irradiadas con estos láseres (**Tabla 6**).

A principios de 1997, la Food and Drug Administration (FDA) aprobó la utilización del láser de Er:YAG tras un informe elaborado por cinco profesionales de los EE.UU., después de tratar 1300 caries, resaltando que tan sólo tres pacientes solicitaron que se les aplicase anestesia local (Cozean y cols., 1997).

Fue en 1998 cuando el láser de Er,Cr:YSGG también obtuvo la aprobación por parte de la FDA para su aplicación sobre los tejidos duros dentarios. Posteriormente, este láser ha ido obteniendo diferentes aprobaciones para muchos más procedimientos odontológicos siendo actualmente el láser que tiene mayor número de indicaciones terapéuticas aceptadas por la FDA.

A pesar de que los efectos físicos producidos por el láser de Er:YAG y el láser de Er,Cr:YSGG sobre los tejidos duros dentales son muy similares, su diferente longitud de onda (la longitud de

onda del láser de Er:YAG es de 2940 nm, mientras que la emitida por el láser de Er,Cr:YSGG es de 2780 nm) hace que la absorción de su energía por parte de los tejidos irradiados no sea exactamente igual (Apel y cols., 2003; Harashima y cols., 2005; Iaria, 2008).

Debido a que en la literatura científica existen más trabajos sobre los efectos del láser de Er:YAG que sobre los del láser de Er,Cr:YSGG y, dado que queremos comparar los resultados obtenidos con este láser con los obtenidos con un láser de pulso ultracorto aún no comercializado para uso odontológico, nos decidimos a utilizar en nuestro estudio el láser de Er:YAG y no el de Er,Cr:YSGG.

1.4.3.2. Características del láser de Er:YAG

Es un láser de emisión pulsada cuyo medio activo es un granate de Ytrio y Aluminio dopado con Erblio. Emite en el infrarrojo con una longitud de onda de 2940 nm. Siguiendo la clasificación en cuanto a medidas de seguridad se refiere, tanto de la Unión Europea, normas ISO, como de los EE.UU., normas ANSI, se le considera un láser de clase IV.

En el presente estudio se ha utilizado el láser de Er:YAG Fidelis Plus III (Fotona, Ljubljana, Slovenia) que tiene como características principales una fluencia máxima de 48 J/cm²; energía máxima pulso de 1.5 J; anchura temporal de pulso de 50 µs (SSP), 100 µs (VSP), 300 µs (SP), 600 µs (LP) y 1000 µs (VLP); una frecuencia máxima de repetición de 50 Hz y una máxima potencia promedio de 20 W.

Los parámetros utilizados en nuestro trabajo, para el tratamiento de la dentina, fueron una potencia de salida de 2.7 W, en modo VSP, con una duración del pulso de 100 µs y una frecuencia de repetición de 9 Hz, conectado a una pieza de mano, modelo R14, en modo no contacto, con irrigación.

Desde la fuente de emisión, los pulsos se transmiten por medio de fibra óptica o mediante óptica integrada en un brazo articulado. La transmisión por fibra óptica es una gran

ventaja como observaremos al comparar con los láseres de pulsos ultracortos, pero aún así, es necesaria la refrigeración de la fibra mediante dispositivos de circulación de agua o aire, debido a la alta absorción de la radiación en las paredes de la misma a esa longitud de onda. Así, se puede conducir el haz hasta una pieza de mano y de ahí al tejido diana (Miserendino y Pick, 1995).

1.4.3.3. Interacción del láser de Er:YAG con la materia

En general, cuando la radiación electromagnética incide sobre la superficie de un material, parte de la onda es reflejada y parte transmitida y de ésta, una parte es a su vez absorbida (Ley de Beer-Lambert) produciendo el calentamiento del material. El coeficiente de absorción lineal depende de la longitud de onda, de la intensidad de la radiación y de las características microscópicas del propio material (Steen, 1998).

El proceso de interacción lineal de la radiación de un láser con un material tiene lugar de la forma que se describe a continuación. Cuando la radiación incide sobre un material, es absorbida por los electrones ligados elásticamente a los núcleos atómicos, de forma que emplean esa energía para realizar un movimiento vibratorio (efecto Bremsstrahlung inverso). El electrón vibrando podrá reemitir esa radiación absorbida en cualquier dirección o bien cederla, por colisiones inelásticas, a los átomos o moléculas de la estructura cristalina. En este último caso, esos átomos o moléculas comienzan a vibrar, vibración que se transmitirá a toda la estructura cristalina por las ligaduras entre átomos y/o moléculas de la misma. Estas vibraciones estructurales elevan la temperatura de la red cristalina y su propagación a lo largo de la misma: es lo que se denomina conducción del calor.

Si se absorbe una gran cantidad de energía del láser, entonces la vibración de los átomos y moléculas tiene tal amplitud que fuerza las ligaduras entre ellos hasta el punto que el material pierde rigidez quedando por tanto fundido (temperatura de fusión). Un incremento aún mayor de la temperatura del material supondrá la desaparición de cualquier ligadura entre átomos o

moléculas diciéndose entonces que el material se ha evaporado (temperatura de evaporación).

Existen una serie de parámetros que condicionan cada una de las etapas del proceso descrito anteriormente y que se relacionan con las propiedades del propio material y las características de la emisión láser. En concreto, cuando deseamos eliminar un material con un láser, las propiedades ópticas (coeficiente de absorción lineal, reflectividad) y térmicas (puntos de fusión y evaporación, conductividad térmica, difusividad térmica) del material son cruciales a la hora de determinar la fuente láser más adecuada y sus características (potencia, longitud de onda, duración de la emisión).

A partir de los años 80 fueron muchas las investigaciones que demostraron que el láser de Er:YAG era adecuado para su utilización en la ablación de los tejidos duros dentales (Hibst y Keller., 1989) debido a que el agua posee un coeficiente de absorción muy elevado a la longitud de onda de emisión de este láser (**Figura 2**), al igual que sucede con la hidroxiapatita (Parker, 2007).

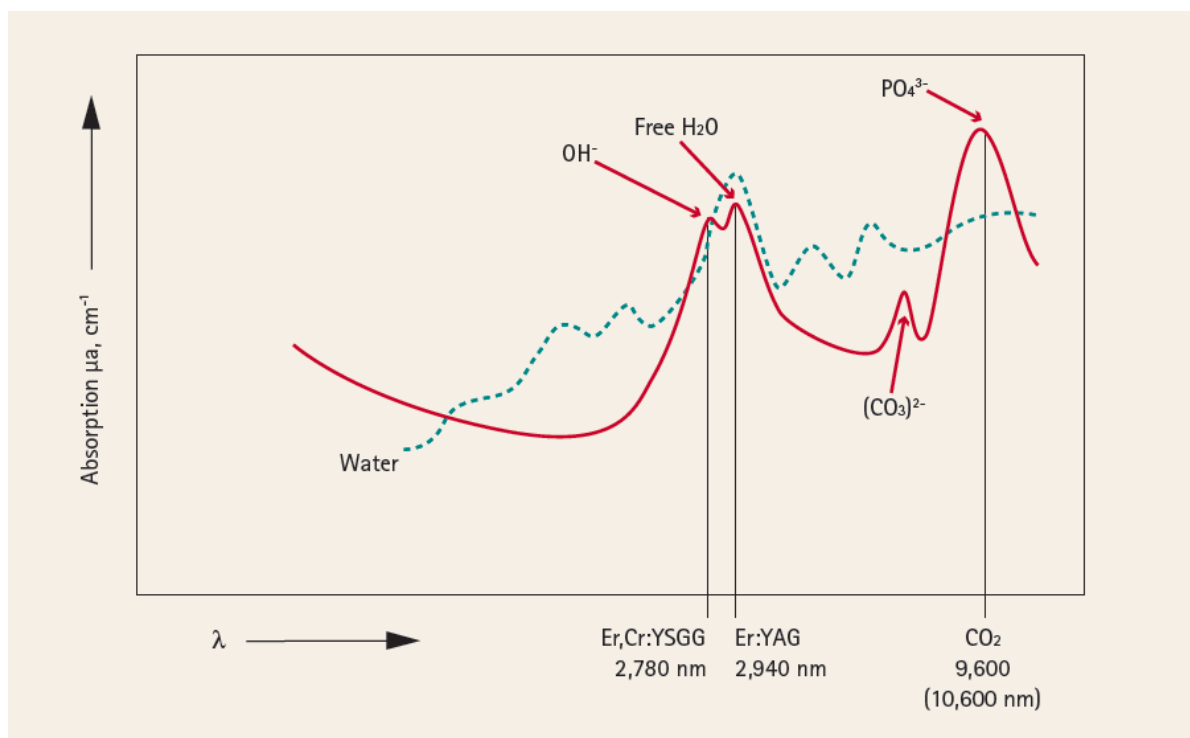


Figura 2: Coeficiente de absorción lineal de la hidroxiapatita carbonatada en función de la longitud de onda. Tomada de Parker, 2007.

En el caso de la dentina, la energía del láser, aplicada en brevísimos lapsos de tiempo, es absorbida por el agua del tejido superficial, lo que conduce a su calentamiento hasta alcanzar la temperatura de vaporización; el agua, al vaporizarse, se expande dentro del tejido dando lugar a un aumento de la presión en su interior, lo que produce la expansión del material a nivel micrométrico y, por consiguiente, su eliminación sin un excesivo calentamiento del tejido remanente (Hibst y cols., 1988; Frenzch y Koort., 1990). Hibst y Keller (1989) determinaron los niveles de ablación en esmalte y en dentina y observaron que la tasa de ablación en la dentina es mayor y más efectiva que en el esmalte, debido a que su contenido hídrico es mayor.

No obstante y como ya se ha descrito anteriormente, el empleo de este láser requiere de la irrigación simultánea del tejido para mitigar el incremento de temperatura que produce la acumulación de pulsos en la zona tratada al aplicarlo en los tejidos duros dentarios (Dostalova y cols., 1996; Cavalcanti y cols., 2003; Attrill y cols., 2004) y en consecuencia, la aparición de microfracturas (Boehm y cols., 1977; Anic y cols., 1992; Sandford y Walsh, 1994; Cox y cols., 1994); así como para favorecer la continuidad del proceso de ablación al retirar el material fundido y resolidificado, o redepositado de la zona de procesado, que podría entorpecer la absorción de la radiación por la dentina intacta. Este efecto indeseado, sumado al tiempo que se tarda en realizar la preparación cavitaria, que es comparativamente mayor que el empleado con las técnicas convencionales, hacen que no sea un método ideal para la preparación de la dentina y nos anime a buscar nuevos procedimientos que resuelvan dichos inconvenientes.

1.4.3.4. Aplicaciones del láser de Er:YAG en Odontología

El laser de Er:YAG tiene distintas aplicaciones en Odontología que van desde la cirugía del hueso (Rupprecht y cols., 2003) y los tejidos blandos (Rizoiu y cols., 1996) hasta el acondicionamiento y la realización de cavidades en los tejidos duros dentales (**Tabla 5**), pasando por la desinfección de bolsas periodontales (Schwarz y cols., 2003) y conductos radiculares debido a su efecto bactericida (Mehl y cols., 1999).

I.4.3.4.1. LÁSER DE ER:YAG PARA REALIZACIÓN DE CAVIDADES.

Debido a que en este estudio se investiga el efecto de los láseres en la ablación de la dentina, en este apartado nos centraremos en dicha aplicación. La **Tabla 5** contiene un resumen de algunos artículos que aplican el láser de Er:YAG para la ablación de la dentina.

Una de las principales ventajas del láser de Er:YAG con respecto a la instrumentación mecánica es la posibilidad de realizar tratamientos de terapéutica dental sin la utilización de anestesia locorregional (Hossain y cols., 1999). Para ello es muy importante el uso del spray de agua/aire, tanto para evitar el aumento de la temperatura que provocará dolor, como para favorecer la ablación de los tejidos duros dentales (Cavalcanti y cols., 2003; Attrill y cols., 2004; Colucci y cols., 2012).

Otra ventaja importante de estos láseres es que nos permiten ser más conservadores con la estructura dental ya que con el láser podemos realizar cavidades más pequeñas que con el instrumental rotatorio (Eberhard y cols., 2008).

Numerosos estudios han descrito la morfología de la superficie dentinaria tras la irradiación con el láser de Er:YAG; esta superficie aparece rugosa, libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos. Además, se observan sobre la superficie dental signos de carbonización y fusión del material y fisuras en el tejido, como consecuencia del daño térmico producido por el aumento de la temperatura (Li y cols., 1992; Hossain y cols., 2003; Harashima y cols., 2005; Zhang y cols., 2011). Si bien la aparición de estos efectos térmicos difieren de unos autores a otros, debido a las distintas combinaciones de parámetros que pueden ser utilizados, parece necesaria la aplicación en todos los casos del spray de aire/agua para minimizar en gran medida este aumento de la temperatura (Hossain y cols., 1999; Cavalcanti y cols., 2003; Attrill y cols., 2004; Colucci y cols., 2012).

Tabla 5: Revisión bibliográfica de los artículos referentes a la aplicación del láser de Er:YAG sobre dentina.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
<i>Colucci y cols.</i>	Effects of water flow on ablation rate and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation.	2012	El aumento de la irrigación con agua durante la irradiación disminuye las zonas de carbonización y las fisuras. Un flujo de agua de 2 ml/min mejora la habilidad de ablación del esmalte y la dentina y disminuye las alteraciones morfológicas de la superficie.
<i>Zhang y cols.</i>	Scanning electron microscopy was used to observe dentin morphology in primary and permanent teeth treated by erbium: yttrium-aluminum-garnet laser.	2011	La dentina irradiada con el láser de Er:YAG aparece libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos. Las fisuras aparecieron al aplicar el láser con una frecuencia de 10 Hz y una energía de 400 mJ.
<i>Eberhard y cols.</i>	Cavity size difference after caries removal by fluorescence controlled Er:YAG laser and by conventional bur treatment.	2008	La preparación cavitaria con el láser de Er:YAG permite una menor pérdida de dentina que cuando se utiliza instrumental rotatorio.
<i>Harashima y cols.</i>	Morphological comparative study on ablation of dental hard tissues at cavity preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers.	2005	Tanto el láser de Er,Cr:YSGG como el de Er:YAG permiten la ablación de los tejidos duros dentales. Las superficies obtenidas se presentan irregulares y rugosas y con los túbulos dentinarios abiertos.
<i>Attrill y cols.</i>	Thermal effects of the Er:YAG laser on a simulated dental pulp: a quantitative evaluation of the effects of a water spray.	2004	El láser de Er:YAG debe ser utilizado con spray de agua durante la preparación cavitaria con el fin de disminuir el aumento de la temperatura.
<i>Cavalcanti y cols.</i>	Pulpal temperature increases with Er:YAG laser and high-speed handpieces.	2003	Las preparaciones con instrumental mecánico y con láser producen un aumento similar de la temperatura cuando se utiliza irrigación con agua. La irrigación con agua es esencial para prevenir aumentos de temperatura que puedan ser dañinos.
<i>Hossain y cols.</i>	A study on surface roughness and microleakage test in cavities prepared by Er:YAG laser irradiation and etched bur cavities.	2003	La superficie de la dentina irradiada con láser de Er:YAG se muestra como una superficie irregular, libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos. La rugosidad de la superficie incrementa tras la irradiación.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
<i>Hossain y cols.</i>	Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist.	1999	La relación entre la profundidad de ablación de la dentina con el láser de Er:YAG y la energía utilizada fue casi lineal. La aplicación de un spray de agua durante la irradiación de la dentina redujo la profundidad de ablación y permitió reducir los signos de daño térmico en el tejido adyacente.
<i>Li y cols.</i>	Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates.	1992	Al irradiar la dentina con el láser de Er:YAG se observaron mínimos cambios térmicos al utilizar fluencias por debajo de 74 J/cm ² y una frecuencia de 5 Hz. La MEB mostró que la dentina irradiada con láser presentaba un aspecto irregular y serrado.

I.4.3.4.2. ADHESIÓN A LA SUPERFICIE DE DENTINA TRATADA CON LÁSER DE ER:YAG

Los resultados existentes en la literatura sobre las fuerzas de adhesión a la superficie dental tratada con láser de Er:YAG son contradictorios (**Tabla 6**). Mientras que algunos autores obtienen valores de adhesión iguales o superiores a los obtenidos con el instrumental rotatorio (Manhães y cols., 2005; De Carvalho y cols., 2008; Da Silva y cols., 2011; Jiang y cols., 2013), otros obtienen un empeoramiento de la eficacia adhesiva (Kameyama y cols., 2000; De Moor y cols., 2010; Shirani y cols., 2012; Koliniotou-Koumpia y cols., 2013; Davari y cols., 2013). A pesar de que la dentina aparece libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos (Brulat y cols., 2009), según Ceballos y cols. (2002), la dentina irradiada presenta una capa superficial que consiste en una superficie escamosa donde las fibras de colágeno aparecen completamente fundidas y vaporizadas. La presencia de esta capa impide la formación de la capa híbrida, dando lugar a valores de adhesión más bajos (Moretto y cols., 2012; De Oliveira y cols., 2013). A pesar de esta controversia, que puede deberse al amplio rango de parámetros utilizados en los distintos estudios y a la gran variedad de adhesivos disponibles actualmente, los investigadores han alcanzado un cierto grado de acuerdo en el hecho de aceptar que la irradiación de la dentina con láser de Er:YG afecta negativamente a la eficacia adhesiva resina-dentina (Kameyama y cols., 2000; Ceballos y cols., 2002). Según algunos autores, los adhesivos de autograbado interactúan mejor con la dentina irradiada (Oliveira y cols., 2005; Koliniotou-Koumpia y cols., 2013).

Tabla 6: Revisión bibliográfica de los artículos referentes al estudio de las fuerzas de adhesión obtenidas tras la irradiación con láser de Er:YAG.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
Davari y cols.	Shear Bond Strength of an Etch-and-rinse Adhesive to Er:YAG Laser- and/or Phosphoric Acid-treated Dentin.	2013	Los valores de fuerza de adhesión obtenidos tras el tratamiento con láser o láser + ácido fueron inferiores a los obtenidos tras el grabado ácido.
De Oliveira y cols.	Analysis of the interfacial micromorphology and bond strength of adhesive systems to Er:YAG laser-irradiated dentin.	2013	En los especímenes tratados con Er:YAG no se observó formación de la capa híbrida.
Jiang y cols.	Comparison of tensile bond strengths of four one-bottle self-etching adhesive systems with Er:YAG laser-irradiated dentin.	2013	El láser de Er:YAG no obtuvo diferencias significativas con el grupo control en los valores de fuerza adhesión obtenidos con los cuatro adhesivos de autograbado en un paso empleados en el estudio.
Kolinitou-Koumpia y cols.	Bonding of adhesives to Er:YAG laser-treated dentin.	2013	Los especímenes tratados con láser son menos receptivos a los procesos de adhesión que los tratados con fresa, independientemente del adhesivo. Los adhesivos de autograbado parece que interaccionan mejor con la dentina irradiada.
Shirani y cols.	Adhesion to Er:YAG laser and bur prepared root and crown dentine.	2012	El láser de Er:YAG afecta negativamente a la adhesión, al utilizar un adhesivo de grabado total y de autograbado en dos pasos, comparado con la técnica tradicional.
Da Silva y cols.	Shear bond strength of two adhesive systems bonded to Er:YAG laser-prepared dentin.	2011	No se observaron diferencias en la fuerza de adhesión a dentina preparada con fresa de diamante o con láser de Er:YAG.
Moretto y cols.	Effects of ultramorphological changes on adhesion to lased dentin-Scanning electron microscopy and transmission electron microscopy analysis.	2011	El láser de Er:YAG interacciona con el tejido duro dental irradiado y produce un patrón morfológico específico de dentina y fibras de colágeno que afecta negativamente a la adhesión del composite a la dentina.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
De Moor y cols.	Laser-assisted cavity preparation and adhesion to erbium-lased tooth structure: part 2. present-day adhesion to erbium-lased tooth structure in permanent teeth.	2010	La irradiación del esmalte y la dentina con el láser de Er:YAG produce alteraciones en la estructura dental que afectan negativamente a la adhesión.
Brulat y cols.	Shear bond strength of self-etching adhesive systems to Er:YAG-laser-prepared dentin.	2009	La ausencia de barrillo tras la irradiación con Er:YAG no mejoró los valores de adhesión de los adhesivos de autograbado.
De Carvalho y cols.	Micro-shear bond strength of Er:YAG-laser-treated dentin.	2008	El láser de Er:YAG puede ser una alternativa para el tratamiento de la dentina previo a los procesos de adhesión.
Manhães y cols.	Influence of Er:YAG laser surface treatment and primer application methods on microtensile bond strength self-etching systems.	2005	El láser de Er:YAG y la fresa de diamante crean un barrillo dentinario diferente; sin embargo, la resistencia de la interfase dentina-resina es semejante.
Oliveira y cols.	Microtensile bond strength analysis of different adhesive systems and dentin prepared with high-speed and Er:YAG laser: a comparative study.	2005	El adhesivo de autograbado en dos pasos produjo fuerzas de adhesión más estables que el grabado total.
Ceballos y cols.	Bonding to Er:YAG-laser-treated dentin.	2002	El láser de Er:YAG crea sobre la dentina una superficie modificada que afecta negativamente a la adhesión.
Kameyama y cols.	Influence of different acid conditioners on the tensile bond strength of 4-META/MMA-TBB resin to Er:YAG laser-irradiated bovine dentin.	2000	El efecto de los acondicionadores ácidos sobre las fuerzas de adhesión a la dentina dependen de si la ésta ha sido previamente irradiada o no.

I.4.4. Láser de Ti:Zafiro (pulso ultracorto)

I.4.4.1. Evolución del láser de Ti:Zafiro

Los láseres de pulso ultracorto, entre los que se encuentra el láser de Ti:Zafiro, llevan en el foco de interés para aplicaciones médicas, entre las que se encuentran el diagnóstico y el procesamiento de tejidos, desde hace más de 15 años.

Muchas publicaciones se han centrado en describir, en general, el mecanismo de ablación ultrarrápida, que es el modo en el que estos láseres interactúan con la materia (Niemz, 1995a; Stuart y cols., 1995; Feit y cols., 1996; Stuart y cols., 1996; Kononenko y cols., 1999; Sallé y cols., 1999). Otros describen la ablación de los tejidos biológicos blandos y duros (Loesel y cols., 1996; Neev y cols., 1996b; Oraevsky y cols., 1996; Niemz, 1998; Kim y cols., 2001).

Casi desde el inicio de la aparición de estos láseres ha existido un interés especial en las investigaciones dirigidas hacia sus aplicaciones sobre los tejidos duros dentales (Altshuler y cols., 1993; Mindermann y cols., 1993; Niemz y cols., 1993; Loesel y cols., 1996; London y cols., 1996; Neev y cols., 1996b; Niemz, 1998; Serafetinides y cols., 1999; Kim y cols., 2001; Serbin y cols., 2002). Esto se debe a que el diente tiene unas características anatómicas especiales, como es la presencia en su interior de la pulpa dental. Por todo esto, es extremadamente importante para procesar este tipo de tejidos que el instrumento utilizado para ello produzca un aumento insignificante de la temperatura con el fin de mantener la vitalidad del diente a largo plazo (Zach y Cohen, 1965; Niemz, 1998). Con el instrumental rotatorio convencional o los láseres de pulsos más largos, que como ya hemos indicado anteriormente son los utilizados actualmente para la eliminación de los tejidos duros dentales, estos requerimientos se consiguen disminuir con abundante irrigación con agua pero, aún así, no se ha conseguido la completa eliminación de microfisuras en la superficie dental remanente (Mindermann y cols., 1993; Hossain y cols., 1999; ; Hossain y cols., 2003; Matsumoto y cols., 2003).

1.4.4.2. Características del láser de Ti:Zafiro

Al igual que el láser de Er:YAG, los láseres de pulsos ultracortos son láseres que aprovechan la emisión estimulada de un medio activo sólido. En el caso del láser utilizado en esta tesis, el medio activo es un cristal de zafiro (Al_2O_3) dopado con Titanio (Ti:Zafiro). La diferencia con el Er:YAG y con otros láseres de estado sólido convencionales reside en la duración de los pulsos que se obtienen, considerándose como pulsos ultracortos todos aquéllos cuya duración es inferior al ps, por las razones que describiremos en el siguiente apartado.

Aunque la emisión del Ti:Zafiro es sintonizable en la banda del espectro entre 650 y 1100 nm, la mayor eficiencia de emisión se obtiene en torno a los 800 nm. El bombeo del Ti:Zafiro se realiza mediante otros láseres que emitan entre 514-532 nm donde el cristal tiene el mayor coeficiente de absorción, por lo que se emplean bien láseres de ión Argón (514.5 nm) o bien láseres de estado sólido como Nd:YAG, Nd:YLF o Nd:YVO (527-532 nm).

La emisión de un láser de Ti:Zafiro es poco energética, siendo la energía obtenida por pulso del orden de los nJ a una tasa de repetición de decenas de MHz. Aunque útiles para muchas otras aplicaciones tecnológicas, estas energías de pulso son insuficientes para provocar la ablación de los materiales por lo que la salida pulsada de estos láseres se ve sometida a continuación a un proceso de amplificación de la energía de una fracción de los pulsos que emite. Es lo que se conoce como amplificación regenerativa tipo CPA (*Chirped Pulse Amplification*) que fue desarrollada a finales de los años ochenta por Mourou y cols. (Strickland y Mourou, 1985), (**Figura 3**) proceso por el cual se seleccionan en una cavidad óptica un número reducido de pulsos de la emisión del oscilador de Ti:Zafiro (normalmente mil cada segundo), se hacen pasar por una red de difracción que los estira en el tiempo convirtiéndolos en pulsos de algunos ns y entonces, mediante un láser de bombeo de gran potencia, se irradia otro cristal de Ti:Zafiro por el que pasan los pulsos aumentando su energía hasta el orden de los mJ. Finalmente, los pulsos ya amplificados se hacen pasar por otra red de difracción que acorta su duración para convertirlos de nuevo en pulsos de duración por debajo del ps.

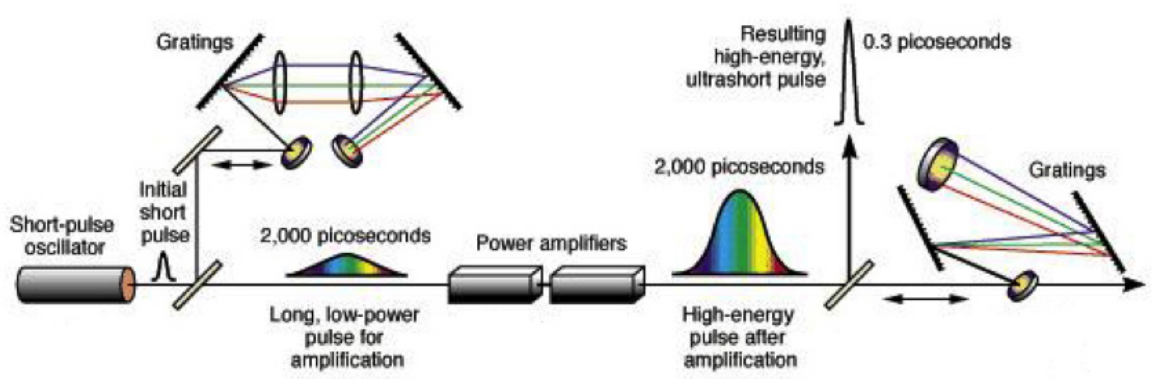


Figura 3: Representación esquemática de la técnica de amplificación regenerativa de pulsos ultracortos CPA (Chirped Pulse Amplification).

La razón fundamental para seguir esta estrategia de amplificación es que los elementos ópticos necesarios para conducir los pulsos ultracortos en la cavidad amplificadora se dañan o destruyen si se amplifican directamente esos pulsos, debido a la altísima concentración de energía que se produciría en el tiempo.

En la presente tesis, se utilizó el sistema de pulsos ultracortos ubicado en el sótano del Edificio Trilingüe perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Salamanca. Este equipo es mantenido y utilizado por personal de los Grupos de Investigación en Óptica Extrema y de Microprocesado de Materiales con Láser de la Universidad de Salamanca para sus propias investigaciones y para dar servicio tecnológico a empresas, centros tecnológicos y grupos de investigación tanto nacionales como extranjeros (**Figura 4**).



Figura 4: Sistema de pulsos láser ultracortos de la Universidad de Salamanca.

El sistema consiste en un oscilador de Ti:Zafiro de la firma Spectra Physics, modelo Tsunami (Figura 5) que, bombeado por un láser de Nd:YVO de Spectra Physics, modelo Millennia, genera pulsos de un centenar de fs ($1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$), con longitudes de onda en el infrarrojo cercano (795 nm) y energías del orden de los 10 nJ con una tasa de repetición del orden de 80 MHz (es decir, 80 millones de pulsos por segundo).



Figura 5: Oscilador de Ti:Zafiro.

El sistema de amplificación de los pulsos utilizado es el modelo Spitfire de la misma firma, Spectra Physics (Figura 6), que emplea como bombeo para la amplificación un láser de Nd:YLF, modelo Evolution X (Figura 7). El resultado es una salida de pulsos de unos 120 fs con energías máximas por pulso de 1 mJ y una tasa de repetición de 1 kHz, que son los que se utilizan para el procesado de materiales.



Figura 6: Sistema de amplificación de pulsos.

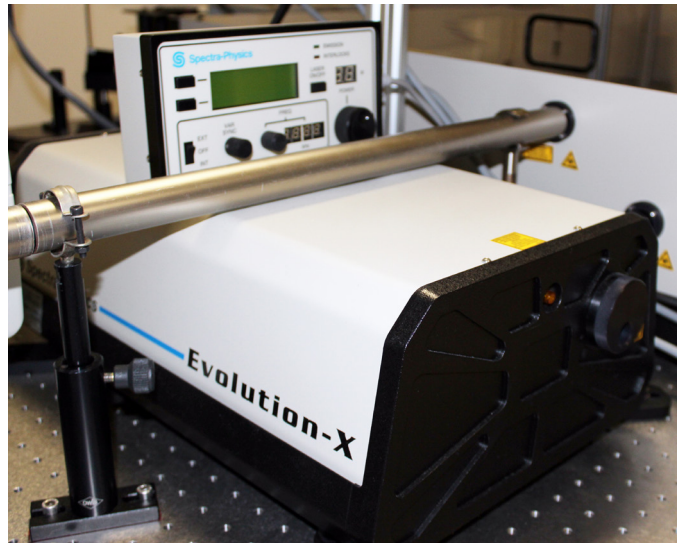


Figura 7: Láser de bombeo del amplificador regenerativo (Nd:YLF).

Los pulsos salen del sistema de amplificación con polarización lineal (el campo eléctrico oscila en una dirección determinada del espacio), siendo la distribución transversal de energía de tipo gaussiana (modo transversal TEM₀₀), con una anchura del haz de unos 9 mm (**Figura 8**).

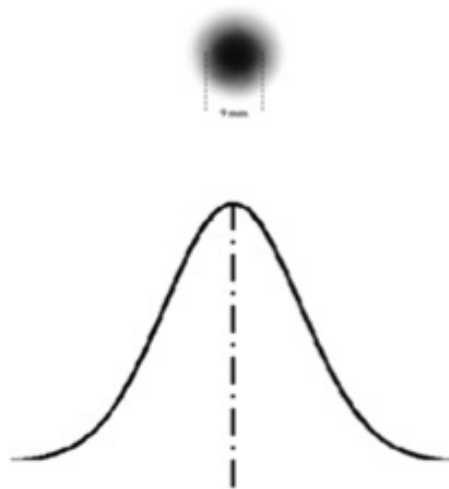


Figura 8: Distribución transversal de la energía de tipo gaussiana (modo transversal TEM₀₀).

Dado que la energía de los pulsos ultracortos es excesiva para la ablación de cualquier material, se emplean dos métodos para reducir y controlar de forma precisa esa energía. Por un lado, se produce una reducción basta de la energía mediante el empleo de filtros neutros para, a continuación, emplear una combinación de lámina de media onda y polarizador lineal para realizar el ajuste fino de la energía (**Figura 9**).



Figura 9: Dispositivo de selección del número de pulsos (obturador mecánico, a la izquierda), dispositivo de control de la energía de pulso (lámina $\lambda/2$ y polarizador lineal) y espejo.

Los pulsos láser viajan a través del aire y con la ayuda de espejos con recubrimientos específicos (**Figura 10**) tanto para la intensidad como para la longitud de onda de estos pulsos, se conducen hasta el sistema de focalización. En este caso, la transmisión por fibra óptica está vedada como consecuencia de la alta intensidad de los pulsos que dañarían la fibra.

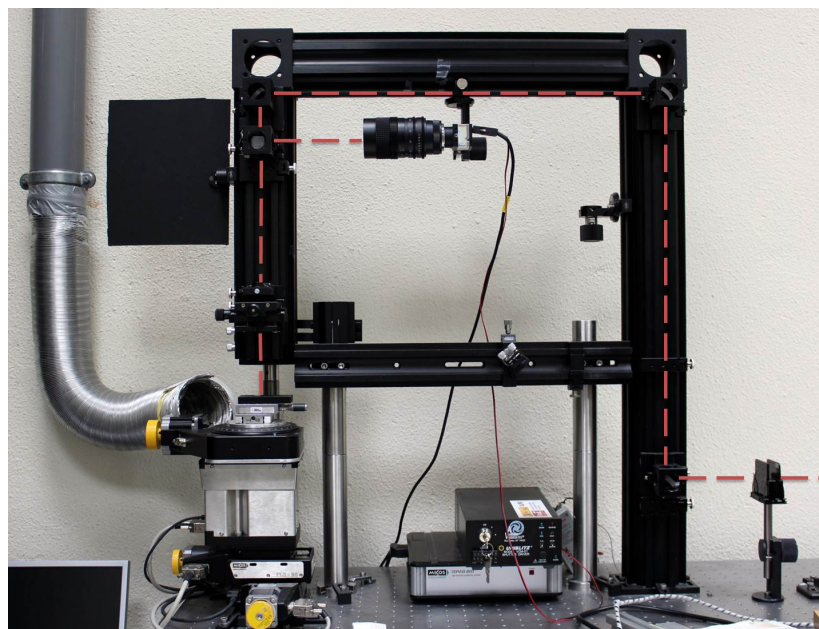


Figura 10: Visión general del banco de microprocesado.

El sistema de focalización está constituido por la lente de focalización y la óptica para la visualización de la zona de procesado (**Figura 11**). Esta última consiste en un divisor de haz y una cámara CCD Philips Luca® (**Figura 12**) que permite recoger fuera del eje óptico la imagen de la superficie a procesar, facilitando el posicionamiento de la muestra y la focalización del haz.

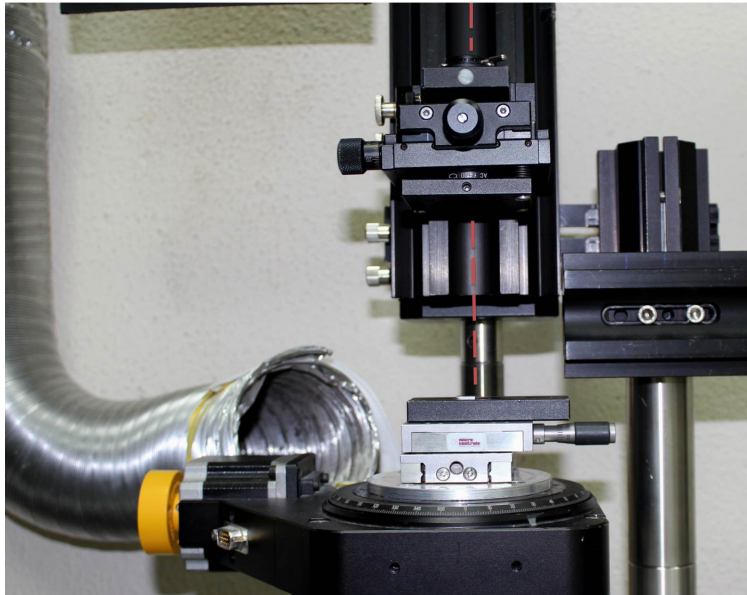


Figura 11: Sistema de focalización y emplazamiento de la muestra.

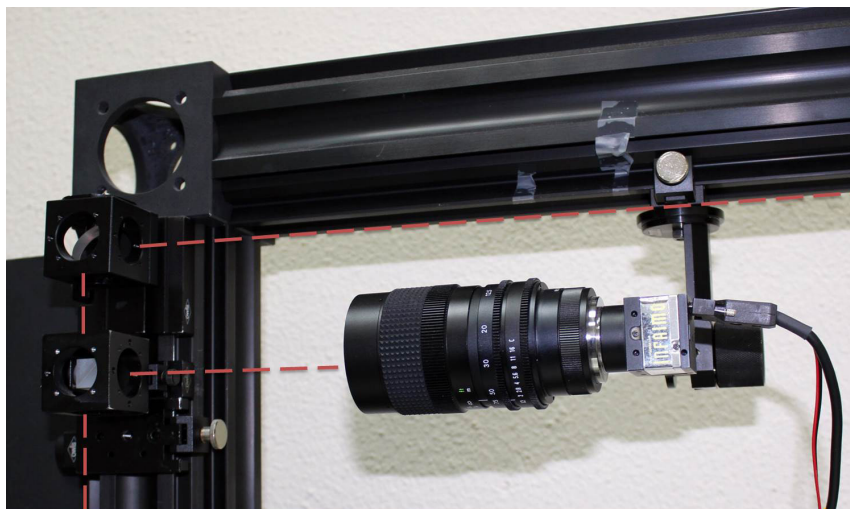


Figura 12: Sistema de visualización y enfoque. Espejo, divisor de haz y cámara.

La lente de focalización es también específica, tanto para la longitud de onda, como para la duración de los pulsos y la densidad de energía a utilizar. En este caso, se emplea un doblete acromático cuya distancia focal es de 100 mm y se sitúa con el eje óptico perpendicular a la mesa óptica. La profundidad de foco de esta lente es de algunos milímetros, lo que permite mantener una densidad de energía uniforme en espesores grandes, facilitando así la ablación controlada de los materiales (**Figura 13**).

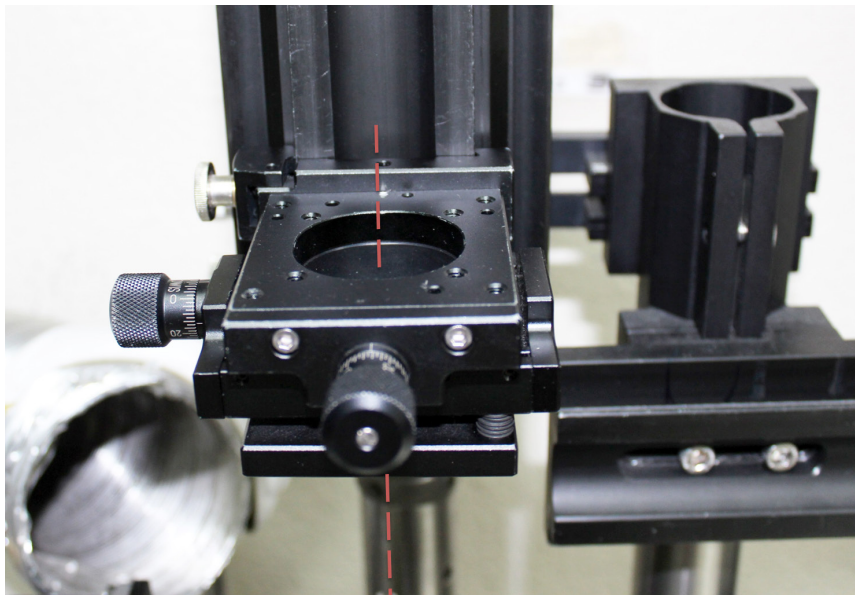


Figura 13: Sistema de focalización (doblete acromático).

Las muestras se sitúan sobre una mesa con desplazamiento motorizado controlado por software en los tres ejes XYZ Micos ES100 de Nanotec, de forma que los pulsos inciden perpendicularmente en la superficie de la muestra (**Figura 14**). Los movimientos horizontales XY permiten barrer en superficie mientras que el movimiento Z permitirá la focalización de los pulsos exactamente en la superficie de las muestras. Para realizar las microestructuras de geometría rectangular, en el primer estudio simplemente se barrió la muestra a lo largo de líneas paralelas en el eje X con diferentes parámetros de procesado. Mientras que, en los estudios de adhesión, primero se barrió la muestra a lo largo de líneas paralelas en el eje X y posteriormente se hizo lo mismo en el eje Y, obteniendo así un patrón cruzado que evite la anisotropía del estructurado y su posible influencia en la adhesión.

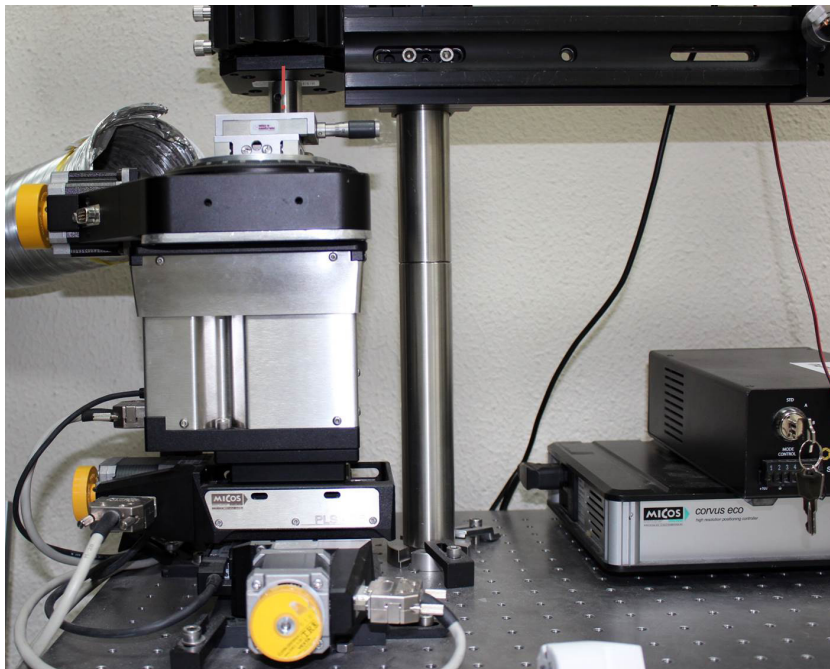


Figura 14: Sistema de posicionamiento de la muestra XYZ.

1.4.4.3. Interacción del láser de Ti:Zafiro con la materia

El mecanismo de interacción de los pulsos ultracortos con la materia es radicalmente diferente al de los láseres convencionales, como el Er:YAG, lo que hace que a su vez la forma de producirse la ablación de los materiales y los efectos colaterales que genera sean también muy diferentes.

La interacción de estos pulsos ultracortos con distintos materiales ha sido objeto de numerosos estudios (Bloembergen, 1974; Pronko y cols., 1995; Stuart y cols., 1995; Chichkov y cols., 1996; Momma y cols., 1996; Stuart y cols., 1996; Varel y cols., 1997; Nolte y cols., 1997; Gamaly y cols., 2002). Para este trabajo de investigación nos centraremos en describir el proceso de interacción que conduce a la remoción de material, lo que se conoce como ablación ultrarrápida. Este fenómeno requiere no solamente que los pulsos sean ultracortos sino que además sean capaces de depositar la energía suficiente por unidad de superficie del material.

En el caso de los láseres convencionales, los electrones absorben la energía de los pulsos solamente si la frecuencia del campo electromagnético (el inverso de la longitud de onda) coincide con la diferencia de energía entre niveles energéticos del átomo o de la molécula, lo que supone en este caso que el electrón absorbe un cuanto de luz, un fotón. Si no es así, no se absorbe. Esto hace que el parámetro fundamental para que se produzca la absorción lineal de la radiación de, por ejemplo, el láser de Er:YAG, sea la longitud de onda. En ese caso, la intensidad (potencia por unidad de superficie) o fluencia (energía depositada por unidad de superficie) solamente influyen en la cantidad de energía que pueden absorber esos electrones, lo que determina la amplitud de su movimiento oscilatorio provocado por el campo electromagnético, que luego transmiten a la red cristalina, calentándola. De esa forma, a mayor intensidad, mayor temperatura se alcanza en la zona irradiada o más rápido se alcanza una determinada temperatura.

En el caso que nos ocupa, cuando los pulsos ultracortos inciden sobre los materiales, su energía es igualmente absorbida por los electrones de los átomos y moléculas de la capa superficial del material. También se produce la absorción lineal de la radiación con la consabida dependencia de la longitud de onda; en el caso de estos pulsos, si la intensidad o fluencia tienen un valor suficientemente alto (por encima de lo que se conoce como umbral) entonces los electrones pueden absorber más de un fotón para promocionarse a niveles energéticos superiores. En este caso, aún existiendo también dependencia con la longitud de onda, el factor fundamental para que el fenómeno se produzca es que la intensidad sea lo suficientemente alta, esto es que haya muchos fotones disponibles para ser absorbidos por los electrones. Ocurre entonces que cualquier material puede absorber la energía de estos pulsos ultracortos y la absorción será más intensa cuanto mayor sea la intensidad de los pulsos, y todo ello teniendo lugar en una fracción de tiempo inferior a la ya de por sí reducida duración de los pulsos (**Figura 15**).

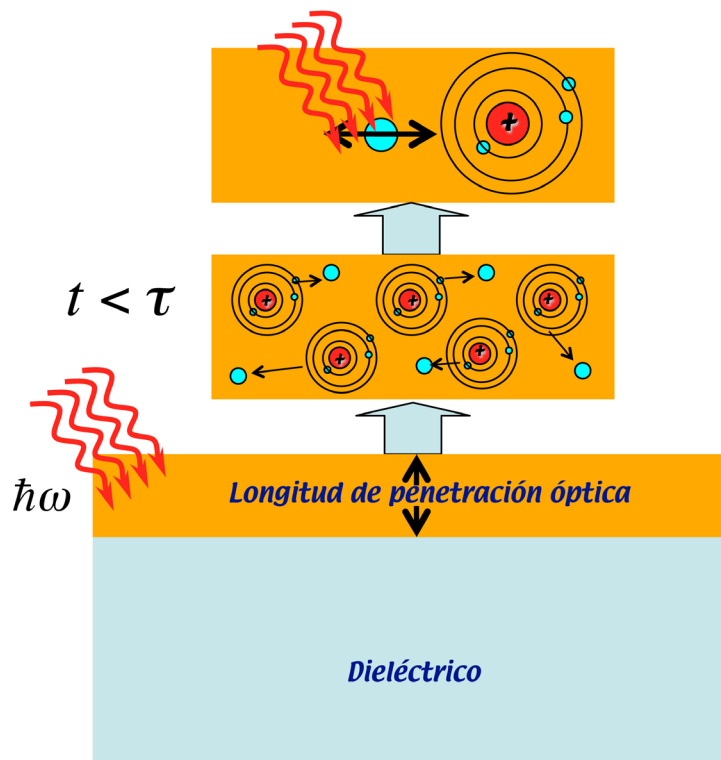


Figura 15: Representación esquemática del proceso de absorción y de ionización multifotónica de un material dieléctrico como la dentina cuando sobre ella inciden pulsos ultracortos intensos (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).

De esta manera, si la intensidad es lo suficientemente alta se puede producir el hecho de que algunos de los electrones, realizando movimientos oscilatorios de enorme amplitud en el seno del campo electromagnético del láser, acaben dejando de estar ligados a los iones, convirtiéndose en electrones libres, en el proceso que se conoce como ionización multifotónica. Estos electrones seguirán experimentando la acción del campo mientras dure el pulso de forma que en su movimiento oscilatorio pueden, por colisión, provocar que otros electrones débilmente ligados a los iones, acaben a su vez desligados. De esta forma en el transcurso del tiempo en que el pulso interactúa con el material superficial, nos encontraremos con que disponemos de un número muy elevado de electrones libres que además migran a la superficie del material.

Si el número de electrones libres es muy elevado, del orden del número de iones, entonces la atracción eléctrica sobre los iones unida a la repulsión entre iones cargados positivamente provocará que se rompan los enlaces que mantienen unidos los iones siendo expulsados de

la zona de procesado como un plasma a alta velocidad, como también sucede con el plasma de electrones libres. Todo este proceso tiene lugar en un intervalo de tiempo no mucho mayor que la duración de los pulsos (Chen y cols., 1999).

Como el promedio de tiempo que tarda un electrón en ceder su energía a la red cristalina es mayor del ps para cualquier material (varía desde pocos hasta cientos de ps, según el material) resulta entonces que el proceso de absorción, ionización y eyección del material tiene lugar sin que haya habido prácticamente transmisión de energía a la red cristalina y, por tanto, no se produce incremento de temperatura ni transmisión de calor al material que rodea a la zona procesada. Se trata de un proceso de ablación de naturaleza intrínsecamente no térmica conocido como explosión de Coulomb (**Figura 16**).

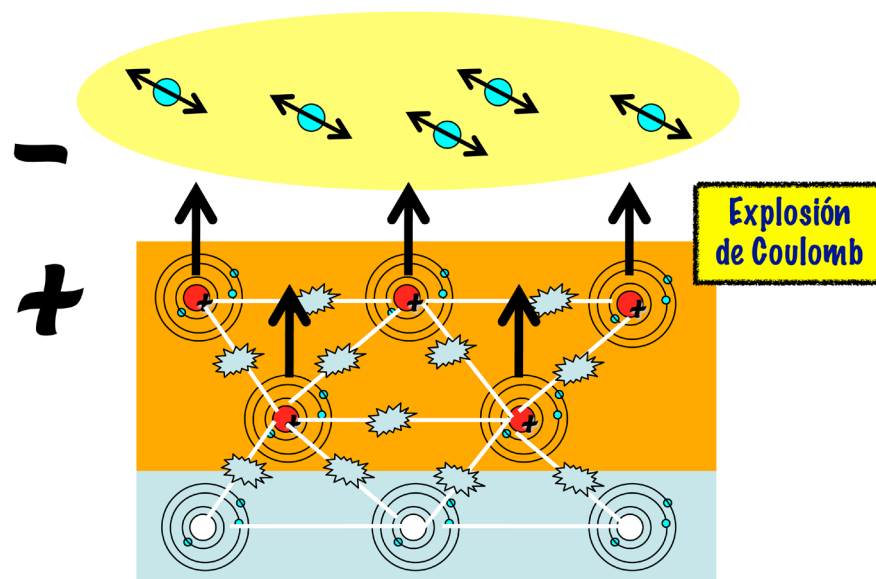


Figura 16: Representación esquemática del proceso de ablación por explosión de Coulomb (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).

En la **figura 17** (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser), se muestra una representación de los procesos de cesión de energía de los electrones a la red cristalina por colisión y de termalización electrónica. Ambos procesos tienen una probabilidad muy baja de ocurrir en un tiempo inferior a la duración de los pulsos ultracortos.

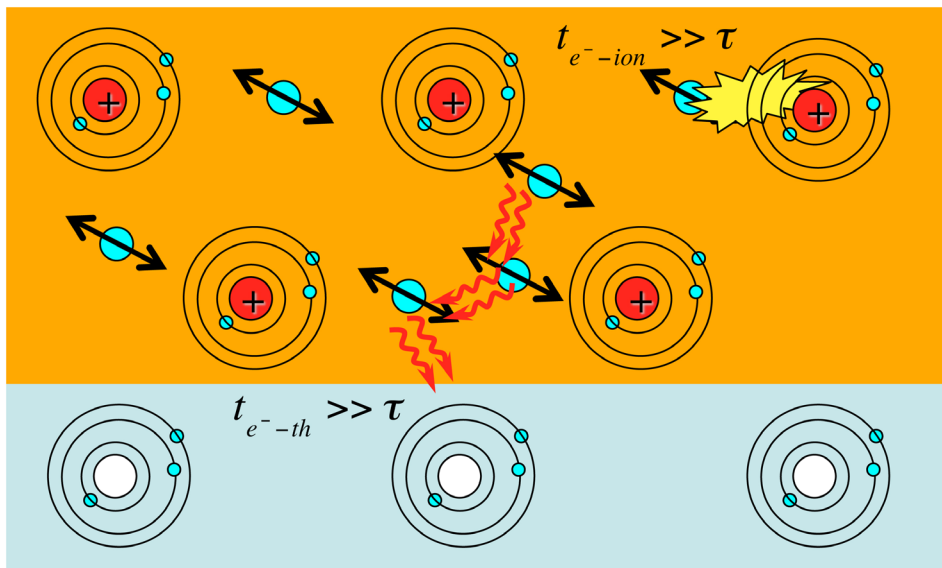


Figura 17: Procesos de cesión de energía de los electrones a la red cristalina por colisión y de termalización electrónica.

No obstante, hay que señalar que este proceso de ablación no térmico no es la única forma de eliminar el material de la superficie mediante estos pulsos ultracortos. De hecho, en cuanto la intensidad supera el umbral para que se desencadene la ionización no lineal, este proceso coulombiano, cuya tasa de eliminación de material es muy baja, empieza a competir con otro, ya de naturaleza térmica, conocido como explosión de fase. En efecto, cuando la intensidad de los pulsos se eleva, el número de electrones libres que se generan es también muy elevado y éstos siguen absorbiendo más y más energía hasta un punto en que empiezan a radiar esa energía en todas direcciones y de forma incoherente.

Parte de esa radiación se dirige hacia la superficie del material donde es absorbida linealmente por éste, elevándose su temperatura de una forma muy brusca lo que provoca la fusión y/o vaporización casi inmediata del material. En este caso, el material es eyectado sin haber podido conducirse la energía absorbida más allá de unas pocas micras de la zona irradiada. El resultado es que se elimina el material en cantidades mucho mayores que en el proceso de explosión de Coulomb y los efectos térmicos sobre las zonas circundantes, aunque no inexistentes, están mucho más limitados espacialmente que en la ablación convencional **(Figuras 18 y 19).**

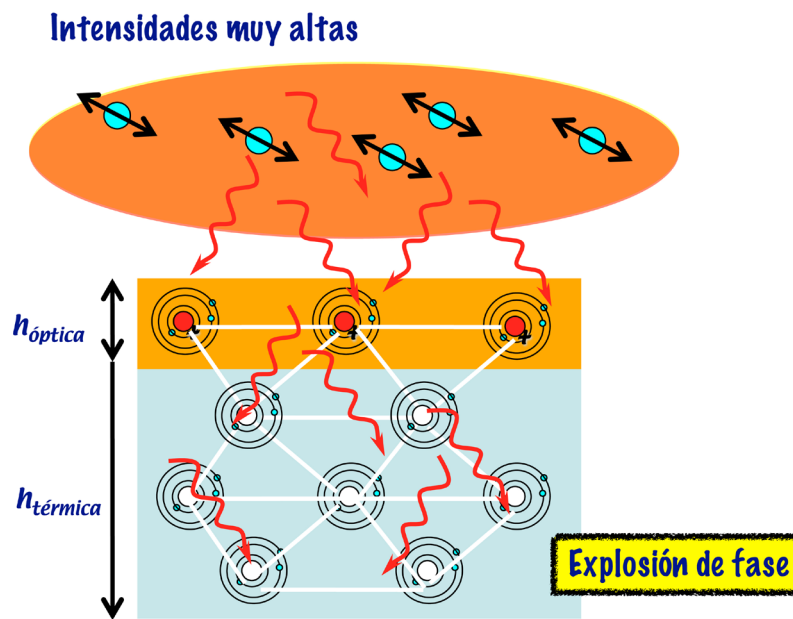


Figura 18: Representación esquemática del proceso de ablación por explosión de fase (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).

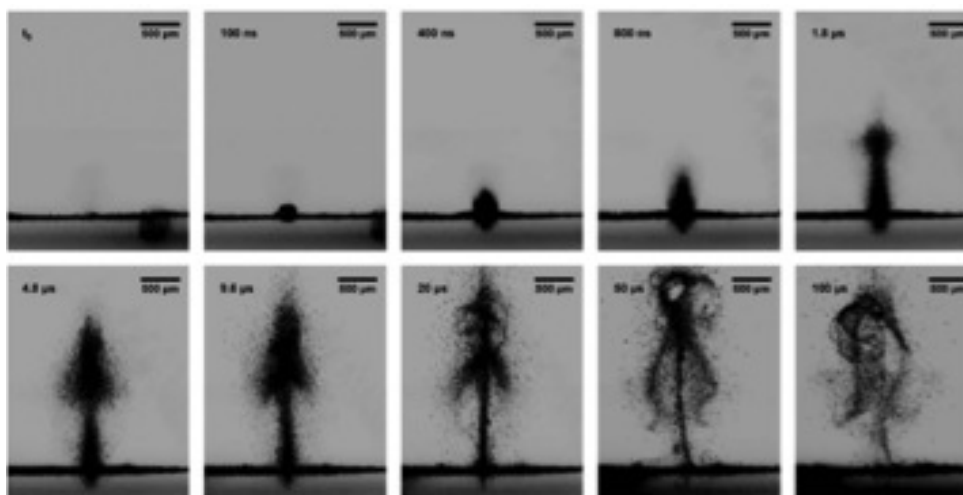


Figura 19: Secuencia de imágenes obtenidas por dispersión de la luz, mostrando la eyección de material en zirconia por explosión de fase al ser irradiada la superficie con un pulso ultracorto suficientemente intenso (Tomada de Heiroth y cols., 2010).

El proceso de ablación ultrarrápida permite eliminar pues, cualquier material con una elevadísima precisión y sin apenas producir efectos colaterales de tipo térmico o mecánico, al no ser un factor determinante la conducción de calor, pues la energía absorbida del láser es eliminada de la zona de proceso casi íntegramente por transporte de material, es decir, con el propio plasma de electrones o con los iones eyectados de la red cristalina.

Hemos indicado que en la base de este mecanismo de ablación están implicados procesos fuertemente no lineales con la intensidad o fluencia de los pulsos. Esto hace que al contrario que la ablación convencional con láser, el proceso se desencadene de forma brusca cuando ese parámetro alcanza un valor denominado umbral. Esa es la razón de que el procedimiento sea a su vez tan preciso desde el punto de vista espacial pues, una vez conocido ese valor umbral para un determinado material, el control de la intensidad sobre la superficie del material permite determinar las zonas que se desean ablacionar dejando el resto del material prácticamente inalterado (**Figura 20**).

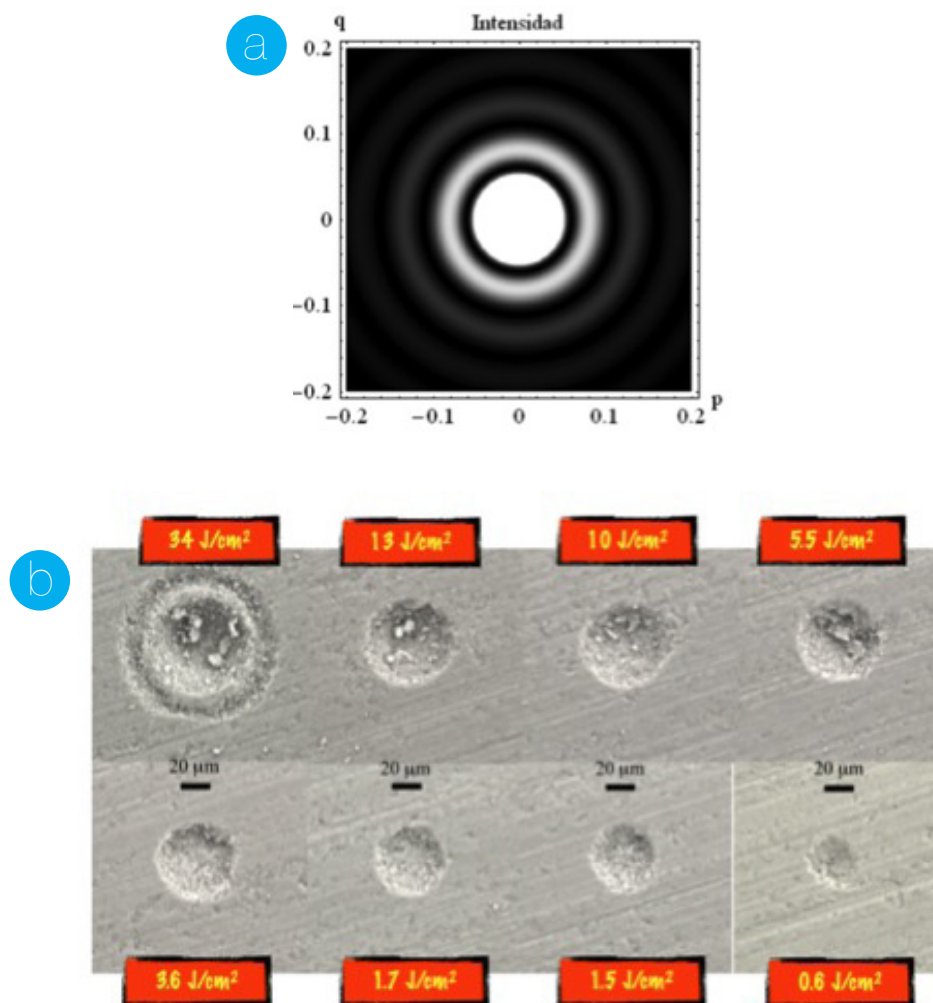


Figura 20: (a) Distribución de la energía de un pulso láser gaussiano sobre la superficie de un material al pasar por una apertura circular de diámetro inferior a la sección del haz; (b) Estructuras producidas por ablación con pulsos ultracortos sobre la superficie de nitruro de silicio utilizando la misma apertura circular de (a) y diferentes energías de pulso (Cortesía del Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser).

En el caso de la dentina, la elección de la energía de los pulsos, la velocidad de barrido y el espaciado entre las líneas de barrido de la muestra con el haz láser deben asegurar que se consigue la eliminación del material.

En el **primer estudio**, realizado sobre la preparación de cavidades para su análisis morfológico, se han empleado energías de pulso dentro del intervalo 0.007-0.05 mJ. Como es obvio, a mayor energía de pulso, mayor diámetro (cráteres) o anchura (surcos) de las microestructuras ablacionadas, y también mayor profundidad para un número igual de pulsos incidentes.

Por otra parte, el número de pulsos incidentes o, en su caso, las velocidades de barrido cuando estamos realizando estructuras de surcos, determina la profundidad de las microestructuras. En este trabajo se han empleado valores de la velocidad de barrido de 0.05 y 0.1 mm/s.

Un parámetro también relevante es la separación entre surcos, que viene determinada por la separación entre las trayectorias de barrido con el láser y la propia energía de pulso utilizada. En nuestro caso, se han utilizado dos valores de esa separación, 0.02 y 0.01 mm, ya que el objetivo era elegir unos parámetros de separación inferiores al tamaño del *spot* del láser para los valores típicos de energías usadas, con el fin de asegurar una superposición entre líneas de barrido que garantice la eliminación de la dentina en toda la superficie.

El **segundo y el tercer estudio** se centraron en la adhesión a dentina; en el segundo estudio no se modificaron los parámetros del láser para los distintos subgrupos, que fueron una energía de 0.045 mJ, una velocidad de barrido de 0.5 mm/s y una separación entre surcos de 0.03 mm. Estos parámetros se escogieron con el objeto de asegurar un tiempo de proceso razonable y una ablación moderada de la dentina. En el **tercer estudio** se modificó la energía de pulso del láser para evaluar de qué forma afectaba al proceso de adhesión; se utilizaron energías de 0.03 mJ, 0.045 mJ y 0.07 mJ, una velocidad de barrido de 0.5 mm/s y una separación entre surcos de 0.03 mm para todas las energías ensayadas.

El estudio de preparación cavitaria para análisis morfológico se realizó en condiciones de humedad ambiente mientras que para la preparación de la dentina en los estudios de adhesión se mantuvieron las muestras en un estado de índice de humedad muy elevado durante el procesado por medio de un humidificador con la salida del vapor dirigida hacia la zona de proceso para evitar la desecación de las muestras ya que posteriormente iban a ser sometidas a los procesos de adhesión (**Figura 21**).



Figura 21: Sistema de humidificación empleado en el procesado de dentina para los estudios de adhesión.

En resumen, el láser de pulsos ultracortos tiene numerosas ventajas, entre las que destacan:

1. Permite realizar todo tipo de microestructuras sobre la superficie de los materiales con una precisión geométrica elevadísima.
2. Es posible procesar todo tipo de materiales, incluidos tejidos biológicos, ya que el proceso depende esencialmente de la intensidad y no de la longitud de onda del láser.
3. Los daños colaterales que sufre el material que circunda la zona ablacionada son

mínimos, como consecuencia de la práctica ausencia de transmisión de energía desde el sistema de electrones a la red cristalina.

En la siguiente imagen (**Figura 22**) se observa la gran precisión y la ausencia de efectos colaterales al producir un cráter por ablación sobre un metal con un láser de fs con respecto al láser de ns sobre un metal (Srinivasan y cols., 1987; Kuper y cols., 1987; Chichkov y cols., 1996; Nolte y cols., 1997; Shirk y Molian, 1998).

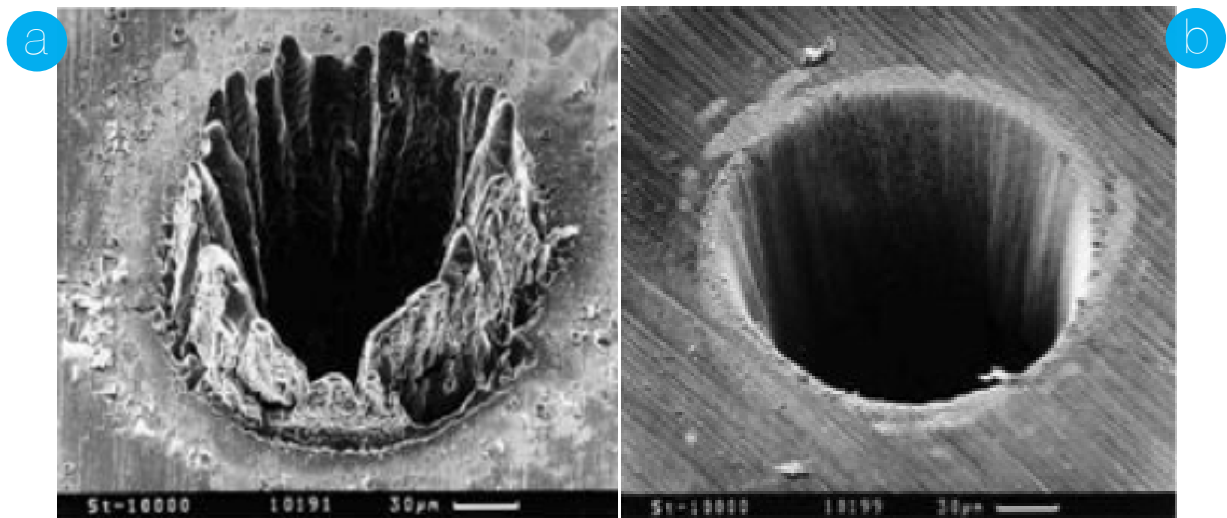


Figura 22: Cráteres realizados en metal con láser de nano (a) y femtosegundo (b), respectivamente. Tomado de Chichkov y cols. (1996).

1.4.4.4. Aplicaciones del láser de Ti:Zafiro en Odontología

El láser de pulsos ultracortos se ha hecho popular para aplicaciones médicas fundamentalmente desde su introducción en el campo de la Oftalmología (femto-LASIK) en el año 2003 (Heisterkamp y cols., 2003; Ratkay-Traub y cols., 2003).

No obstante, la ablación ultrarrápida ha sido utilizada profusamente en biología (Tsai y cols., 2004), comprendiendo desde el corte de orgánulos subcelulares en las células cultivadas (Tirlapur y König, 2002; Watanabe y cols., 2004; Hoy y cols., 2008) y procesos de regeneración axónica en organismos pluricelulares (Yanik y cols., 2004; Bourgeois y Ben-Yakar,

2008; Gabel y cols., 2008; Guo y cols., 2008) hasta la ablación de hueso, dentina y esmalte (Neev y cols., 1996a; Perry y cols., 1999; Niemz, 2004; Nicolodelli y cols., 2011; Braun y cols., 2013; Luengo y cols., 2013, Rego Filho y cols., 2013), córnea (Stern y cols., 1989; Kautek y cols., 1994; Juhasz y cols., 1999; Lubatschowski y cols., 2000; Maatz y cols., 2000; Odhner y Levis, 2014; Plötz y cols., 2014), epitelios (Frederickson y cols., 1993), y tejidos neuronales (Oraevsky y cols., 1996; Suhm y cols., 1996; Loesel y cols., 1998; Tsai y cols., 2003; Doronina y cols., 2009) y vasculares (Nishimura y cols., 2006; Choi y cols., 2011).

El estudio de las aplicaciones de este tipo de láser en Odontología se remonta a los años 90 (**Tabla 7**). El aumento de popularidad de los láseres de Er:YAG hizo que se perdiera interés en la tecnología de pulsos ultracortos. Sin embargo, las fuentes de láser que proporcionan este tipo de pulsos se fueron desarrollando rápidamente, con una tendencia al aumento de potencia media de salida y de tasas de repetición más altas. Así, en diferentes estudios se han investigado otras longitudes de onda, duraciones del pulso y otros parámetros (Lizarelli y cols., 2000; Henning y cols., 2001; Rode y cols., 2002; Alves y cols., 2012; Chen y cols., 2013). La mayoría de ellos se enfocaron a la preparación cavitaria para descubrir si produce buenos niveles de ablación, tanto en el esmalte como en la dentina (Niemz, 1995b; Willms y cols., 1996; Lizarelli y cols., 1999; Marion y Kin, 1999; Kruger y cols., 1999; Lizarelli y cols., 2000; Nicolodelli y cols., 2011; Ji y cols., 2012; Sun y cols., 2012; Bello-Silva y cols., 2013; Braun y cols., 2013; Luengo y cols., 2013; Rego Filho y cols., 2013; Schelle y cols., 2013). Otros se centraron en el microestructurado de implantes dentales de zirconio (Delgado-Ruiz y cols., 2011) y en la realización de osteotomías en sustitución de la técnica mecánica convencional y del láser de Er:YAG (Wieger y cols., 2007; Girard y cols., 2007).

I.4.4.4.1. LÁSER DE TI:ZAFIRO PARA REALIZACIÓN DE CAVIDADES

A lo largo de los años se ha observado que al utilizar los pulsos ultracortos, los efectos térmicos disminuyen considerablemente, en comparación con el láser de Er:YAG (Kermani y cols., 1993; Dostalova y cols., 1996; Kohns y cols., 1997; Lizarelli y cols., 2000; Strassl y cols., 2005). Además, con el láser de pulso ultracorto se produce un bajo nivel de ruido en

comparación con el que generan otros sistemas láser y el dolor se reduce al mínimo debido a la localización de la deposición de la energía. No obstante, la investigación actual sobre este sistema para aplicaciones dentales todavía está en un nivel muy básico y no se entienden de forma clara muchos de los factores que influyen en el proceso de ablación y en la generación de calor.

Así, los estudios existentes sobre ablación de la dentina con láser de pulso ultracorto son muy escasos (**Tabla 7**). En todos ellos se concluye que este láser permite la ablación de la dentina con extremada precisión y con daños térmicos y mecánicos mínimos; esto hace que se conviertan en una potencial alternativa al instrumental rotatorio y a otros láseres convencionales con el fin de evitar los inconvenientes de dichas técnicas. Aunque la gran cantidad de parámetros procesables hace difícil la adecuada elección de los mismos, nuestro objetivo en el primer estudio fue evaluar cómo afectaban algunos de esos parámetros a la ablación de la dentina.

I.4.4.4.2. ADHESIÓN A LA SUPERFICIE DE DENTINA TRATADA CON LÁSER DE TI:ZAFIRO

Los estudios realizados hasta el momento (**Tabla 7**) muestran que la superficie irradiada aparece rugosa, libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos. Estas características, aparentemente, son ideales para la posterior adhesión de las resinas compuestas sobre dicha superficie. Por todo ello, nos centramos en estudiar qué ocurre en el campo de la adhesión, en el que este láser ha sido muy poco utilizado. Actualmente, sólo existe una referencia que relaciona la ablación de la dentina con pulsos ultracortos y la adhesión (Gerhardt-Szep y cols., 2012) y tres centradas en la adhesión a esmalte (Kabas y cols., 2013; Lorenzo y cols., 2013a; 2013b).

Los estudios llevados a cabo sobre acondicionamiento del esmalte con el láser de Ti:Zafiro por nuestro equipo de investigación han sido muy satisfactorios y han permitido concluir que el láser de pulso ultracorto, sin el empleo de un acondicionamiento ácido previo, permite obtener eficacias adhesivas similares a las obtenidas con el grabado con ácido ortofosfórico,

eliminando, por tanto, los efectos adversos provocados por éste (Lorenzo y cols., 2013a; 2013b). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Kabas y cols. (2013) y hacen de esta técnica una buena alternativa al ácido ortofosfórico para el cementado de *brackets* de ortodoncia en el esmalte.

La investigación realizada por Gerhardt-Szep y cols. (2012), sobre adhesión a dentina con láser de pulso ultracorto, es sustancialmente diferente a la realizada en esta tesis doctoral pues utilizaron el láser para crear un mallado de la superficie con objeto de aumentar la retención mecánica de la resina compuesta a dicha superficie, por lo que parte de la dentina permanecía intacta. En nuestro caso realizamos la irradiación de toda la superficie dentinaria sin dejar zonas sin irradiar. Por ello, no nos hemos planteado la comparación directa de nuestros resultados con los obtenidos en este estudio. Debido a la gran cantidad de adhesivos que disponemos en la actualidad y a que cada uno de ellos, por su distinta composición, interaccionan de diferente forma con el sustrato dental, en el segundo estudio decidimos evaluar los distintos tipos de adhesivos más utilizados actualmente en Odontología. Además, como la superficie ablacionada era semejante a la que obteníamos tras el grabado con ácido ortofosfórico, también nos planteamos evaluar las fuerzas de adhesión tras la eliminación del grabado ácido en un adhesivo de grabado total en dos pasos.

Tabla 7: Revisión bibliográfica de los artículos referentes a la aplicación del láser de pulso ultracorto sobre dentina.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
Kohns y cols	Effective laser ablation of enamel and dentine without thermal side effects.	1997	Durante el tratamiento con láser de fs se evita el daño térmico y mecánico sobre la estructura dental.
Niemz	Ultrashort laser pulses in dentistry: advantages and limitations.	1998	El laser de Ti:Zafiro permite la ablación de la dentina con mínimo daño térmico y mecánico. Además, la rugosidad que produce sobre la superficie (10 µm) es ideal para la mayoría de los materiales de relleno.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
Lizarelli y cols.	Characterization of enamel and dentin response to Nd:YAG picosecond laser ablation.	1999	Existe una correlación importante entre la fluencia del láser y la morfología de la superficie. La tasa de ablación en dentina es ocho veces mayor que la del esmalte.
Krüger y cols.	Femtosecond-pulsed laser ablation of dental hydroxyapatite and single-crystalline fluoroapatite.	1999	La aplicación de los láseres de pulso ultracorto en Odontología puede ser una alternativa a la técnica mecánica convencional para mejorar la calidad de los tratamientos dentales, ya que se minimiza el daño colateral en los tejidos.
Kim y cols.	Influence of pulse duration on ultrashort laser pulse ablation of biological tissues.	2001	Los pulsos con una duración menor de 1 ps permiten una ablación efectiva de la dentina con un mínimo daño de la superficie. Sin embargo, los pulsos más largos de 1 ps producen un mayor daño térmico y mecánico.
Ji y cols.	Ultrashort microwave induced thermoacoustic imaging: a breakthrough in excitation efficiency and spatial resolution.	2012	El láser de Ti:Zafiro permite una ablación precisa de la dentina generando cavidades con bordes bien definidos y limpios. La ablación con láser de fs no afecta a la composición química de los tejidos. Los efectos térmicos sobre los tejidos son menores que con láser de ns y ps.
Sun y cols.	Femtosecond pulsed laser ablation of dental hard tissues with numerical control: a roughness and morphology study.	2012	El láser de fs permite una ablación dental precisa. La rugosidad de la superficie en las paredes es menor que en el fondo de la cavidad. Se debe seleccionar una adecuada potencia del láser para evitar la aparición de daños en el tejido.
Alves y cols.	Femtosecond laser ablation of dentin.	2012	La superficie ablacionada presenta un aspecto irregular y rugoso, sin signos de fusión, deformación, fisuras o carbonización. El láser elimina por completo el barrillo dentinario y los túbulos dentinarios permanecen abiertos. Para fluencias más altas, la superficie aparece más rugosa y está oculta por el debris de la ablación y algunas gotas de material resolidificado. La composición química de la dentina no se ve significativamente modificada con el láser.

Autor	Título	Año	Resultados y Conclusiones
Rego Filho y cols.	Influence of the hydration state on the ultrashort laser ablation of dental hard tissues.	2013	Los tejidos duros dentales con diferentes estados de hidratación presentan cambios en sus propiedades de ablación cuando se irradian con láseres de pulso ultracorto. A mayor deshidratación, mayores son los efectos térmicos. El daño térmico en la dentina aparece cuando se utilizan altas tasas de repetición ya que en estos casos no se previene la absorción lineal.
Chen y cols.	Effects of fluence and scanning velocity on the ablation efficiency of dentin and enamel by femtosecond laser.	2013	La fluencia y la velocidad de barrido afectan a la eficiencia de la ablación de la dentina, por lo que la elección adecuada de estos parámetros permitirá mejorar la eficiencia de ablación de los tejidos.
Schelle y cols.	Ultrashort pulsed laser (USPL) application in dentistry: basic investigations of ablation rates and thresholds on oral hard tissue and restorative materials.	2013	Los láseres de pulso ultracorto proporcionan niveles de ablación suficientes para ser considerados como una tecnología prometedora en aplicaciones dentales.
Braun y cols.	Heat generation caused by ablation of dental hard tissues with an ultrashort pulse laser (USPL) system.	2013	El aumento de la temperatura dependerá del tipo y el grosor de los tejidos ablacionados. Este aumento se produce por un efecto acumulativo y es mayor en esmalte que en dentina.



1.5. Test de medición de la resistencia adhesiva en dentina

Tradicionalmente, para el análisis de la resistencia adhesiva de los distintos sistemas adhesivos se empleaba la totalidad del diente para obtener una única muestra: este diente se sometía a fuerzas de cizalla o de tensión. Actualmente, el procedimiento más común es utilizar varios especímenes obtenidos de cada diente; éstos son los denominados test de resistencia a la microtensión (MTBS) o a la microcizalla (SBS).

Sano y cols. introdujeron, en 1994, el test de microtensión en Odontología con objeto de medir la resistencia a la tensión y el módulo de elasticidad en la dentina mineralizada y desmineralizada. Más recientemente, los test de microcizalla se hicieron populares como una alternativa a los test de cizalla convencionales (Phrukkanon y cols., 1998; Placido y cols., 2007). En general, los especímenes más pequeños tendrán menos probabilidades de presentar defectos de tamaño crítico que puedan afectar a los valores de adhesión (Armstrong y cols., 2010).

Actualmente, existe controversia sobre qué test es el más adecuado para medir la fuerza de adhesión dentina-resina. En la **tabla 8** se enumeran las ventajas e inconvenientes de estos “micro” test (Armstrong y cols., 2010).

Tabla 8: Ventajas e inconvenientes de los test de microtensión (MTBS) y microcizalla (SBS).

MTBS	
 Ventajas	 Inconvenientes
Más fallos adhesivos y menos fallos cohesivos.	Preparación y realización laboriosa.
Mide valores de fuerza de adhesión más altos.	Dificultad técnica.
Mide la fuerza de adhesión en regiones limitadas de la dentina.	Facilidad de deshidratación y fractura de las muestras debido a su pequeño tamaño.
Calcula la media y la varianza para cada diente.	Dificultad para medir valores de adhesión bajos.
Permite medir la adhesión a superficies irregulares.	Dificultad de retirada de la muestra del dispositivo de sujeción.
Permite testar superficies muy pequeñas.	
Distribución de fuerzas más homogénea.	
Facilita la evaluación con MEB de las áreas fracturadas.	

SBS	
✓ Ventajas	✗ Inconvenientes
Calcula la media y la varianza para cada diente.	La tensión producida por la flexión al aplicar la carga es responsable de la iniciación de la fractura.
El espécimen no es sometido al stress durante el corte de la muestra, como ocurre en el MTBS.	Una distribución no uniforme del stress se concentra en el sustrato.
Permite testar superficies muy pequeñas.	La medición de la fuerza de adhesión subestima el verdadero stress al que el espécimen es sometido durante la fractura.
Mide valores de adhesión bajos.	
Facilita la evaluación con MEB de las áreas fracturadas.	

Si las condiciones experimentales son constantes, cabe esperar que los valores de MTBS sean acordes cuando se testan los mismos materiales en distintos laboratorios. Sin embargo, cuando se aplican variaciones en el método y en los parámetros, difícilmente se podrán comparar entre sí los valores obtenidos en los diferentes estudios (Ghassemieh, 2008; Soares y cols., 2008). Muchos factores pueden contribuir a esta variabilidad entre laboratorios y son difíciles de identificar en los artículos publicados, ya que la mayoría de ellos no describen con exactitud el método empleado: los dispositivos de sujeción, el método de fijación del espécimen, las propiedades mecánicas de los adhesivos, la forma y preparación de los especímenes, velocidad de la máquina, etc... (Armstrong y cols., 2010). Para evitar esas variaciones y facilitar la comparación de los distintos estudios es importante explicar de forma detallada la metodología utilizada en el estudio.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, en esta tesis se decidió realizar la medición de la resistencia adhesiva de los materiales testados con el test de microtensión debido a las ventajas que presenta. Un esquema de la metodología utilizada se muestra en la **Figura 23**.

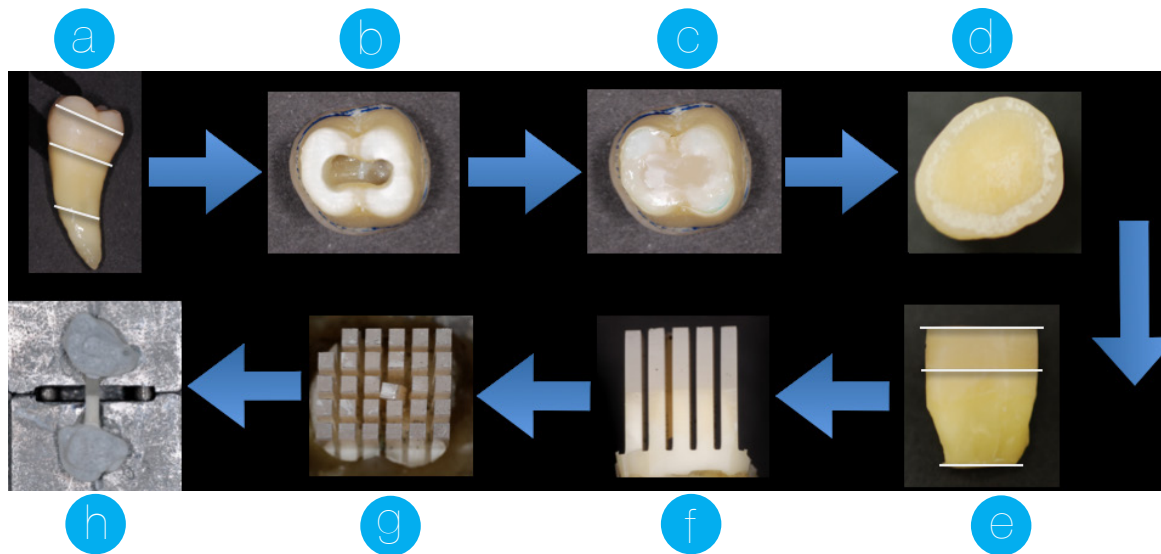


Figura 23: Esquema de la metodología utilizada para el MTBS: (a) El molar se cortó a nivel oclusal y radicular de manera paralela a la unión amelocementaria, (b) se eliminó el tejido pulpar de la zona radicular, (c) se rellenó la superficie radicular con un sistema adhesivo y resina compuesta, (d) se trató la superficie oclusal con láser de Er:YAG o Ti:Zafiro en los grupos láser, (e) se confeccionó una corona de resina compuesta de 4-5 mm de altura, (f) posteriormente, los molares fueron seccionados verticalmente en intervalos de aproximadamente 1 mm de espesor, en sentido vestibulo-lingual y (g) mesio-distal con una cortadora de precisión y discos de diamante bajo abundante irrigación con agua, siguiendo el método propuesto por Sano y cols. (1994). Tras esto, obtuvimos barritas con un área de aproximadamente 1 mm², (h) cada barrita se pegó a un dispositivo de sujeción Bencor Multi-T con cianoacrilato en gel y se sometió a una fuerza de tracción en una máquina universal de ensayo con una aceleración de 0.5 mm/min hasta que se produjo la fractura del espécimen. Una vez removidas del dispositivo las barritas fracturadas, se localizó el tipo de fallo con un microscopio óptico y se clasificó según el lugar de la fractura en fallo adhesivo, mixto o cohesivo.





CAPÍTULO II

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

El instrumental rotatorio ha sido utilizado para la preparación cavitaria y la remoción de caries desde los inicios de la operatoria dental. Sin embargo, uno de los principales inconvenientes de esta técnica son los efectos térmicos y mecánicos indeseables que se producen sobre los tejidos dentales y que dan lugar a alteraciones en la estructura de dichos tejidos así como molestias al paciente, lo que hace necesaria la utilización de anestesia local durante el procedimiento. Para prevenir los efectos térmicos y preservar la pulpa en buenas condiciones se utiliza irrigación conjunta, la cual suele reducir la visibilidad del campo operatorio. Además, el tamaño y la forma de las fresas no permite realizar formas geométricas complicadas ni un tratamiento mínimamente invasivo. Estos problemas conllevan la necesidad de buscar métodos alternativos que ayuden a minimizar o anular dichos efectos que pueden comprometer la vitalidad del tejido pulpar y la eficacia adhesiva de las resinas a largo plazo.

El láser se ha propuesto como un sustituto a la técnica mecánica convencional, siendo el más empleado y estudiado el de Er:YAG; sin embargo, sigue presentando varios inconvenientes que hacen necesario seguir investigando otros tipos de láser, entre los cuales, el de Ti:Zafiro se presenta como el más idóneo ya que los pulsos extremadamente cortos e intensos que proporciona esta fuente de radiación permiten la ablación de la superficie con elevada precisión y reproducibilidad, obteniendo un daño colateral en la superficie incomparablemente menor que con cualquier otro procedimiento térmico, químico o mecánico.

Al emplear el láser de Ti:Zafiro para realizar las cavidades se obtiene un sustrato de dentina distinto al que se forma tras la aplicación de la turbina con fresa, ya que el obtenido tras la aplicación del láser es irregular, rugoso, sin barrillo dentinario y muestra la apertura de los túbulos dentinarios; por lo tanto, se hace necesario investigar si los sistemas adhesivos más empleados actualmente en Odontología (grabado total de dos pasos y autograbadores de dos y un paso) podrían obtener una eficacia adhesiva resina-dentina similar, o incluso mayor, al aplicarlos sobre este sustrato obtenido al irradiar la dentina con láser de Ti:Zafiro.

Aunque al producir una superficie teóricamente propensa a una correcta técnica adhesiva y teniendo en cuenta que cambiaría el patrón tradicional de

adhesión, nos planteamos también intentar omitir el acondicionamiento ácido en los adhesivos de grabado total con la intención de obtener una eficacia adhesiva resina-dentina similar pero con el beneficio de ahorrar un paso, esto es, costes, tiempo y todos los inconvenientes que la técnica de grabado ácido presenta. Estas pesquisas son novedosas ya que aunque actualmente existen algunos estudios sobre la ablación de la dentina con el láser de pulso ultracorto, hasta la fecha no hay ninguno que analice la eficacia adhesiva resina-dentina de los diferentes sistemas adhesivos sobre la superficie previamente tratada con el láser de Ti:Zafiro.

Por lo tanto, los objetivos principales de este trabajo de investigación *in vitro* fueron:

- 1)** Evaluar y comparar los cambios morfológicos que ocurren en la dentina después del tratamiento con instrumentación mecánica con turbina o la irradiación con láser de pulsos ultracortos con distintos parámetros.

- 2)** Investigar la influencia de la irradiación previa en dentina con láser de Er:YAG y de Ti:Zafiro sobre la eficacia adhesiva resina-dentina de tres sistemas adhesivos.

- 3)** Determinar el efecto del microestructurado de la dentina con láser de Ti:Zafiro, utilizando diferentes energías, en las fuerzas de microtensión obtenidas con un adhesivo de grabado total de dos pasos al aplicarlo sólo con el acondicionamiento con láser o junto al ácido ortofosfórico.



CAPÍTULO III

PUBLICACIONES ORIGINALES

III.1. Portillo Muñoz M, Lorenzo Luengo MC, Sánchez Llorente JM, Peix Sánchez M, Albaladejo A, García A, Moreno Pedraz P.

Morphological alterations in dentine after mechanical treatment and ultrashort pulse laser irradiation.

Lasers Med Sci. 2012; 27(1): 53-8.

ISSN: 0268-8921.

Índice de Impacto: 2.402 - JCR Science Edition: 2012.

Categoría: Surgery.

Posición en la categoría: 45 de 195 (T1/Q1).

RESUMEN:

El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar los cambios morfológicos que ocurren en la dentina tras la irradiación con láser de fs y con instrumentación mecánica. La duración del pulso del láser es un parámetro a tener en cuenta ya que durante este tiempo la difusión del calor juega un papel esencial en los mecanismos de interacción entre la luz y el tejido. Seis terceros molares totalmente incluidos fueron seccionados en láminas de aproximadamente 1 mm de grosor con una cortadora de precisión (Accutom-50). Las muestras obtenidas se dividieron al azar en dos grupos de acuerdo a la preparación cavitaria: preparación cavitaria mecánica y preparación cavitaria con láser. Posteriormente, las muestras se examinaron con MO y con MEB. Se observaron claras diferencias en los resultados obtenidos con las dos técnicas. En las cavidades realizadas con el láser con pulsos de 120 fs no se observaron microfisuras y la superficie tratada presentó un aspecto rugoso e irregular sin presencia de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos; por el contrario, las cavidades realizadas con instrumental rotatorio tenían una superficie lisa con presencia de microfisuras, una amplia zona de carbonización y fusión, los túbulos dentinarios obstruidos y presencia de barrillo dentinario. En este estudio se demostró que la dentina humana puede ser ablacionada con éxito con el láser de pulso ultracorto.

Morphological alterations in dentine after mechanical treatment and ultrashort pulse laser irradiation

María Portillo Muñoz · María Cruz Lorenzo Luengo ·
José Miguel Sánchez Llorente · Manuel Peix Sánchez ·
Alberto Albaladejo · Ana García · Pablo Moreno Pedraz

Received: 6 December 2009 / Accepted: 4 October 2010 / Published online: 27 October 2010
© Springer-Verlag London Ltd 2010

Abstract The aim of this study was to evaluate and compare the morphological changes that occur in dentine after femtosecond laser irradiation and after mechanical treatment. The duration of the laser pulse is an important parameter, because within the time frame of the pulse heat diffusion plays a very important role in the mechanism of interaction between the light and the tissue. Six totally impacted human third molars were sectioned into sheets approximately 1 mm thick with an Accutom-50 precision cutting machine. The samples were randomly divided into two groups according to their cavity preparation: mechanical cavity preparation and laser cavity preparation. The samples were then examined by light microscopy and scanning electron microscopy. There were clear differences in the results obtained with the two techniques. Cavities prepared with the laser with pulses of <1 ps showed no microcracks, and the treated surface displayed a rough and irregular aspect with no smear layer and exhibited open dentinal tubules. On the contrary, cavities made with a rotary instrument had a smooth surface and microcracks, a broad area of carbonization and merging, occluded

dentinal tubules and a smear layer. This study showed that human dentine can be successfully ablated with the ultrashort pulse laser.

Keywords Femtosecond · Laser · Dentine · Thermal effects

Introduction

Rotary instruments have been used for cavity preparation and caries removal since the beginning of operative dentistry. Cavity extension is no longer used for prevention with the advances in new materials and techniques that allow minimally invasive dentistry. Lasers have become a valuable tool in several scientific fields, and in dentistry they are currently used to eliminate caries, in the treatment of dentine and enamel, to bleach the teeth, to sterilize root canals, and in soft-tissue surgery [1].

The characteristics of the titanium:sapphire laser (femtosecond laser) were first discussed by Moulton in 1986 [2]. Femtosecond lasers have also been used recently in dentistry on hard dental tissues [3, 4]. In recent years, the production of high-intensity laser sources has been an important line in the development of this technology, in particular high-intensity sources that produce extremely short pulses, below the picosecond range (10^{-12} s). These laser pulses, amplified to energies of the order of millijoules and, when focused correctly, allow the ablation of surfaces with extreme precision and reproducibility, and as a result they cause much less collateral damage in the adjacent material than any other thermal, chemical or mechanical process [5].

Laser pulse duration is an important parameter because within the time frame of the pulse heat diffusion plays a very important role in the mechanism of interaction

M. Portillo Muñoz · M. C. Lorenzo Luengo ·
J. M. Sánchez Llorente (✉) · M. Peix Sánchez · A. Albaladejo
Dental Clinic, Faculty of Medicine, University of Salamanca,
Paseo Universidad de Coimbra s/n,
37007 Salamanca, Spain
e-mail: jmsll@usal.es

P. Moreno Pedraz
Departamento de Ingeniería Mecánica, Faculty of Physics,
University of Salamanca,
Salamanca, Spain

A. García · P. Moreno Pedraz
Grupo de Investigación en Láseres Intensos, Faculty of Physics,
University of Salamanca,
Salamanca, Spain

between the light and the tissue [6]. Shortening the pulses minimizes heating effects and allows the introduction of new mechanisms such as plasma-mediated ablation, which differs from the thermal ablation employed by conventional lasers in the almost total absence of thermal effects, which results in a significant increase in precision and quality of machining [7–12]. The mechanism basically consists of the ionization, by nonlinear processes, of atoms or molecules on the surface of the irradiated material, which form a dense plasma that expands upon completion of the pulse (duration in the order of 100 fs) with no time for heat diffusion to occur in the solid material (which requires pulses in the order of tens of picoseconds), resulting in the removal of material with very little heating [5].

Generally, when longer pulses are used more undesirable thermal effects appear since thermal energy accumulates and penetrates sufficiently deeply into the tissue to induce thermomechanical damage and, as a result, irreversible damage to the dental pulp tissue, which is particularly sensitive to such thermal effects. Moreover, in hard dental tissues microfractures or “cracks” are formed as a consequence of the increase in temperature. Shorter pulses reduce heat and at the same time diminish the effect of ablation; thus, shorter pulses can reduce heat and structural damage to tissues [13].

The aim of this study was to evaluate and compare the morphological changes that occur in dentine after femto-second laser irradiation with different parameters and after mechanical treatment.

Materials and methods

Sample preparation

Six totally impacted human third molars, extracted over a period of 1 week, were collected at the Oral and Maxillofacial Surgery Unit of the Virgen de la Vega Hospital in Salamanca. The teeth were stored in an oven at 37°C for no longer than 1 month in physiological saline solution to prevent them from drying out. Subsequently, they were cut transversely into two parts: crown and root. Each crown was sectioned longitudinally in a vestibulolingual direction into sheets approximately 1 mm thick, using an Accutom-50 (Denmark, Copenhagen) precision cutting machine and Struers 330 K diamond grinding disks with abundant water as coolant. Approximately 9–11 sheets were obtained from each specimen. After discarding the sheets containing only enamel, 58 sheets were obtained. These samples were ground with sandpaper of 300, 400 and 600 grit in a polishing machine. Following this, the samples were kept in an oven at 37°C (for a maximum period of 1 month) in physiological saline solution to prevent them

from drying out until the microscopy study. They were then randomly divided into two groups according to the cavity preparation method: mechanical cavity preparation ($n=29$) and laser cavity preparation ($n=29$). Each laser sample was treated using all investigated parameters (Table 1).

Mechanical cavity preparation

A Kavo handpiece was used to make 550–600 μm perforations in the dentine samples at a speed of 450,000 rpm with a 0.5-mm round tungsten bur (H1.314.005; Komet, Lemgo, Germany) with water as coolant.

Laser cavity preparation

The study was performed at the Laser Service of the University of Salamanca with a system based on a titanium:sapphire oscillator (Tsunami; Spectra-Physics, Mountain View, CA), which produces pulses of 100 fs, wavelengths in the near infrared region (795 nm), and energies of the order of 10 nJ, with a repetition rate of 80 MHz. Even focusing with microscope objectives, these low-energy pulses are unable to ablate the surface of materials. In order to provide sufficient energy the pulses must be amplified with a “regenerative” system (Spitfire; Spectra-Physics) which is based on the chirped pulse amplification technique developed in the 1980s by Mourou and Strickland [14].

The samples were fixed in a precision X-Y-Z translator stage under computer control (Micos ES100; Nanotec, Munich, Germany). Horizontal XY movements allowed the area that we wished to structure to be swept, while the Z movement allowed pulses to be focused exactly on the

Table 1 Schematic representation of the parameters used

Row	Parameter	Column			
		1	2	3	4
A	Pulse energy (mJ)	0.05	0.05	0.05	0.05
	Speed (mm/s)	0.1	0.1	0.05	0.05
	Steps (mm)	0.02	0.01	0.01	0.02
B	Pulse energy (mJ)	0.03	0.03	0.03	0.03
	Speed (mm/s)	0.1	0.1	0.05	0.05
	Steps (mm)	0.02	0.01	0.01	0.02
C	Pulse energy (mJ)	0.01	0.01	0.01	0.01
	Speed (mm/s)	0.1	0.1	0.05	0.05
	Steps (mm)	0.02	0.01	0.01	0.02
D	Pulse energy (mJ)	0.007	0.007	0.007	0.007
	Speed (mm/s)	0.1	0.1	0.05	0.05
	Steps (mm)	0.02	0.01	0.01	0.02

sample surface. The cavities were made in the dentine near the dentinoenamel junction. In order to obtain microstructures with a rectangular geometry, the samples were swept in parallel lines at different speeds (v), pulse energies (E) and steps (s). The step is the movement of the laser beam between two shots. The different energies used in this study were as follows: 0.05 mJ (row A), 0.03 mJ (row B), 0.01 mJ (row C) and 0.007 mJ (row D) (Table 1). The cavities in columns 1 and 2 were obtained at a speed of 0.1 mm/s, and in columns 3 and 4 they were obtained at a speed of 0.05 mm/s (Table 1). The steps were 0.02 mm for columns 1 and 4 and 0.01 mm for columns 2 and 3 (Table 1). No external water cooling system was used.

Analysis of samples

Light microscopy

All samples were examined under an Axio picture M1 (Carl Zeiss, Germany) light microscope. We used Epiplan $\times 20$ and $\times 50$ HD objectives (Carl Zeiss Vision), attached to a $1,300 \times 1,030$ -pixel digital camera (AxioCam HR; Carl Zeiss Vision). The images obtained were processed with Axiovision software. This software measured the depth and diameter of the cavities made.

Electron microscopy

For viewing of samples under the scanning electron microscope (SEM), they were set up on aluminium disks and coated with a layer of gold using a SEM coating system from Bio-Rad. Images of the samples were obtained using a secondary electron detector in a DSM 940 Zeiss electron microscope at the Electron Microscopy Service of the University of Salamanca. Samples were viewed perpendicularly and multiple images were obtained at different magnifications of the most representative areas of each sample for subsequent assessment. These images were scanned directly onto a Hewlett-Packard XW 8000 workstation to allow comparison between samples. All images were saved in TIF format.

Results

The effects of the two cavity preparation techniques (mechanical preparation and laser preparation using the femtosecond laser at 795 nm) on dentine were studied. First, we describe the results obtained for the laser cavity preparations and then we address those obtained with the mechanical system.

In brief, microscopic evaluation of the laser-prepared cavities showed that the depth of the craters appeared to

increase with increasing energy and vice versa. There was no difference in the morphology of the cavities obtained with the same energies and steps when the sweep speed was varied. The larger step (0.02 mm) removed less dentine, since there were areas that were not affected by the radiation, presenting an intact dentine, and even dentine tubules were seen. However, with the 0.01 mm step, all the superficial dentine was removed without leaving areas of intact dentine.

Figure 1 shows a cavity obtained with the femtolaser with $E = 0.007$ mJ, $v = 0.05$ mm/s and $s = 0.02$ mm. The cavity was a square of approximately $210 \mu\text{m}$. Morphological analysis revealed a well-defined cavity surface, and intact dentine was present inside the cavity corresponding to the nonradiated dentine resulting from an increase in step. Additionally, the zone adjacent to the cavity had numerous open dentinal tubules with no smear layer. No signs of collateral damage such as carbonization, charring or cracks were observed.

When speed was increased and the step was decreased ($E = 0.007$ mJ, $v = 0.1$ mm/s and $s = 0.01$ mm), the cavity (Fig. 2) was a square of approximately $200 \mu\text{m}$ and showed no thermal effects. However, no irradiated dentine was observed inside the cavity. The bottom of the cavity showed a characteristic pattern of replacement of ejected material; this pattern was related to the direction of the laser beam.

The results obtained upon increasing the energy per pulse ($E = 0.03$ mJ, $v = 0.05$ mm/s, and $s = 0.02$ mm) are shown in Fig. 3. The cavity was a square of approximately $205 \mu\text{m}$. The limits of the cavity were well defined and the cavity showed no cracks as a result of heat damage. Dentinal tubules remained open with no smear layer. Although the step was 0.02 mm, no intact dentine was observed inside the microcavity; this was because of the increase in laser energy which caused a more pronounced

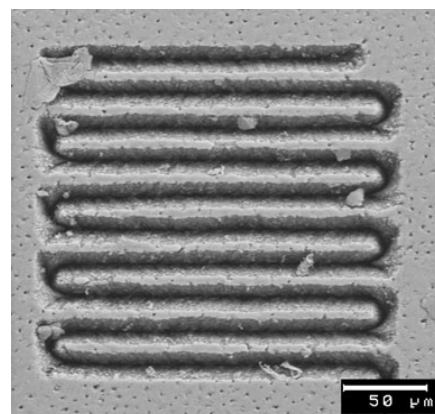


Fig. 1 SEM micrograph of a cavity in dentine prepared with the femtolaser at $E = 0.007$ mJ, $v = 0.05$ mm/s and $s = 0.02$ mm (original magnification $\times 374$)

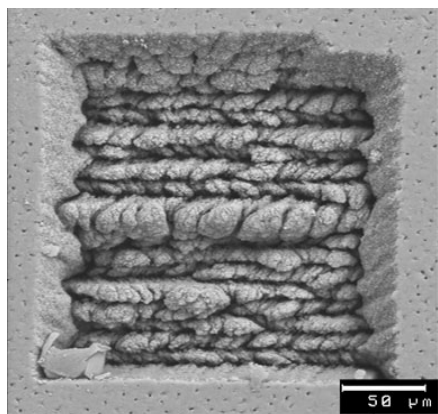


Fig. 2 SEM micrograph of a cavity in dentine prepared with the femtolaser at $E = 0.007$ mJ, $v = 0.1$ mm/s and $s = 0.01$ mm (original magnification $\times 374$)

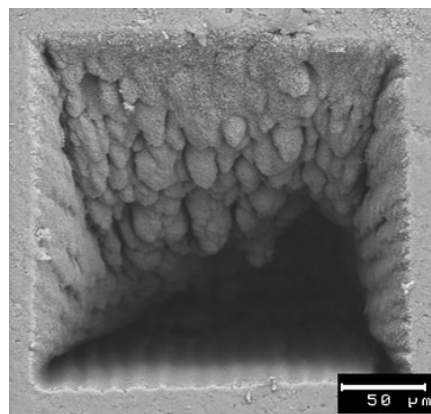


Fig. 4 SEM micrograph of a cavity in dentine prepared with the femtolaser at $E = 0.03$ mJ, $v = 0.1$ mm/s and $s = 0.01$ mm (original magnification $\times 374$)

ablation of the dentine, and this in turn was responsible for the characteristic shape with higher areas alternating with deeper depressions.

In order to analyse the impact of step size on the morphology of the cavity, we compared the results obtained with $s = 0.02$ mm (Fig. 3) with those obtained with $s = 0.01$ mm (Fig. 4), keeping the other two parameters constant. Thus, as shown in Fig. 4 in a cavity made with the femtolaser at $E = 0.03$ mJ, $v = 0.1$ mm/s and $s = 0.01$ of approximately $220 \mu\text{m}^2$ square, the smaller step was associated with a greater degree of dentine ablation.

It is remarkable that the surface did not show cracks or signs of heat damage; however, the dentinal tubules were more occluded, probably as a result of the increased energy and the smaller step, but in this cavity the tubules were not

as sealed as in cavities obtained with the rotary instrument. In addition, an area of sedimentation of material was seen both at the bottom and the top of the cavity; this could correspond to the ablated dentine deposited at the bottom.

Figure 5 shows a cavity made with the rotatory instrument at a speed of 450,000 rpm under abundant water cooling. Circular cavities with a diameter between 560 and 600 μm were made. The cavity shown in Fig. 5 has a smooth floor and walls and three cracks radiating outwards from the cavity, produced during cooling following the temperature increase caused by contact of the bur with the surface. The micrograph also reveals a broad area of carbonization and merging; in this case the dentinal tubules were occluded due to the evident presence of a smear layer.

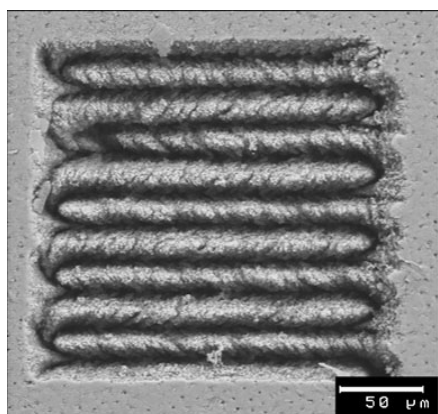


Fig. 3 SEM micrograph of a cavity in dentine prepared with the femtolaser at $E = 0.03$ mJ, $v = 0.05$ mm/s and $s = 0.02$ mm (original magnification $\times 374$)

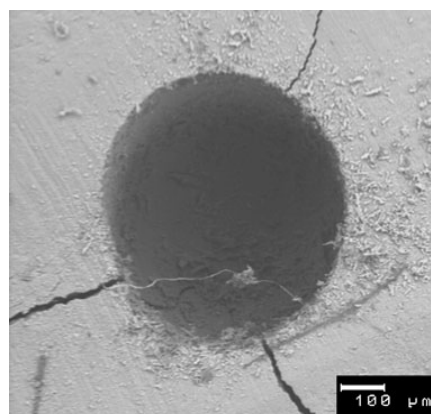


Fig. 5 SEM micrograph of a cavity in dentine prepared with the tungsten bur at a speed of 450,000 rpm under abundant water cooling (original magnification $\times 100$)

Discussion

In this study, a femtolasers was used for the ablation of human dentine. The laser parameters used were as follows: pulse energies 0.05, 0.03, 0.007 and 0.01 mJ; speeds 0.1 and 0.05 mm/s; and steps 0.02 and 0.01 mm. Increasing or decreasing the speed did not influence either the morphology of the cavity or the effects of the laser on it; however, changing the step affected the morphological aspect of the cavity. Thus, by reducing the step from 0.02 to 0.01 mm a greater degree of dentine ablation was obtained and vice versa. This is logical because the number of times that the laser radiated the surface was doubled. In addition, when the energy was increased the volume of dentine removed also increased, but the morphology of the adjacent dentine was modified and a greater sealing of dentine tubules was observed. The dimensions of the cavities were not affected by these parameters, remaining at approximately at 200 μm [13].

In all cases, dentine ablation was accompanied by minimal morphological changes in comparison with mechanical treatment. The limited number of studies that currently exist about hard dental tissue ablation with ultrashort lasers, similar to the laser used in our study, suggest that human dentine can be successfully ablated with these devices; furthermore, application of subpicosecond pulses almost completely prevents thermal damage and microcracking in neighbouring tissue, as observed here [3, 5, 13, 15, 16]. Moreover, studies on the application of these lasers in other tissues such as bone confirm that the temperature increases generated are low and result in only minor thermal and mechanical damage to the tissue [17–19].

The results of the present study suggest that to improve the quality of tooth treatment the application of ultrashort pulse lasers can offer an alternative to the classical mechanical technique.

It is well known that cutter remains are generated when mechanical instruments are used to prepare cavities, some of which inevitably become compacted to form a layer on the cutting surface (known as the smear layer). This material is made up of loosened particles of enamel, dentine and cement with a particle size between 1 and 50 μm , and the smaller particles can enter the lumen of the dentinal tubules and partially occlude them.

As in previous studies, our results obtained with the SEM suggest that the surface of cavities made with mechanical instruments is smooth, and the presence of a smear layer and occluded dentinal tubules are characteristic. Therefore, these cavities must subsequently be upgraded to provide anchorage for the restorative materials [20]. The superiority of femtosecond lasers for the precise machining of different materials has been demonstrated [5, 7, 21], attributing this to the fact that lasers produce minimum thermal and mechanical damage to the surface. This

attribute makes the laser a good candidate for use in hard dental tissues since the absence of microcracks obtained with ultrashort pulses is of great importance in dentistry because such cracks may be a source of new caries. In addition, an intact interface acting as a barrier to the microleakage of bacteria and oral fluids is important in preventing dental pathology and pain [4, 16, 22].

The friction produced by rotatory instruments generates high temperatures that cause irreversible damage to the tooth. The tooth surface shows signs of thermal and mechanical damage (cracks), and this technique leads to the formation of a smear layer. In contrast, the femtosecond (titanium:sapphire) laser causes minimal structural change to the irradiated dentine. The surfaces showed a complete absence of thermal and mechanical damage such as cracks, craters and charring. The treated surface had a rough and irregular aspect without a smear layer or cracks, and with open dentinal tubules, which would contribute to a greater strength of the restorative materials. These benefits have been also described by several other authors [3, 15, 16].

The size and shape of burs do not allow complex shapes to be obtained or minimally invasive treatment [19]. A recent study has concluded that the use of lasers in cavity preparation involves a smaller loss of healthy dentine [23]. This is because the laser probably avoids the vibrations of mechanical instruments that reduce the precision of cutting and alter the morphology of the cavity. Lasers allow cavities ten times smaller than the smallest bur to be made [17, 18] and afford greater control over the removal of material.

Preparations made with mechanical instruments require simultaneous use of water as coolant to prevent damage to the pulp caused by high temperatures generated inside the cavity. This water coolant often reduces the visibility of the operative field. As seen here, by using ultrashort pulse lasers the need for irrigation is eliminated because the process of heating occurs over a shorter period than the normal time taken by the materials to transmit the heat (of the order of tens to hundreds of picoseconds). Additionally, the use of laser technology in operative dentistry reduces patient stress since there is no noise or need for anaesthesia for cavity completion.

A critical point for the application of femtolasers in practice is the time needed to treat a patient. Another drawback is that these lasers have not been currently marketed for use in dentistry and are still fairly expensive devices.

This study was an initial project aimed at determining the mechanical properties of laser-treated dentine when femtosecond pulses were used. Further studies will focus on the bonding of dental materials to laser-irradiated dentine.

Acknowledgments A.G. and P.M. acknowledge the support of Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación through the Consolider Program SAUUL (CSD2007-00013) and research project FIS2009-09522, from

Junta de Castilla y León through the Program for Groups of Excellence (GR27) and of the EC Seventh Framework Programme (LASERLAB-EUROPE, grant agreement no. 228334). We also acknowledge the support of the Centro de Lasers Pulsados, CLPU, Salamanca, Spain.

References

1. Youssef M, Quinelato A, Youssef F, Pelizon Pelino JE, Salvadori MC, Mori M (2008) Dentinal surface-cutting efficiency using a high-speed diamond bur, ultrasound and laser. *Laser Phys* 18:472–477
2. Moulton PF (1986) Spectroscopic and laser characteristics of Ti:Al₂O₃. *J Opt Soc Am* 3:125–133. doi:10.1364/JOSAB.3.000125
3. Kohns P, Zhou P, Stormann R (1997) Effective laser ablation of enamel and dentine without thermal side effects. *J Laser Appl* 9:171–174
4. Serbin J, Bauer T, Fallnich C, Kasenbacher A, Arnold WH (2002) Femtosecond lasers as novel tool in dental surgery. *Appl Surf Sci* 197–198:737–740
5. Niemz MH, Kasenbacher A, Strassl M, Backer A, Beyertt A, Nickel D, Giesen A (2004) Tooth ablation using a CPA-free thin disk femtosecond laser system. *Appl Phys B* 79:269–271
6. Rethfeld B, Sokolowski-Tinten K, von der Linde D, Anisimov SJ (2004) Timescales in the response of materials to femtosecond laser excitation. *Appl Phys A* 79:767–769
7. Chichkov BN, Momma C, Nolte S, von Alvensleben F, Tunnermann A (1996) Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation solids. *Appl Phys A* 63:109–115
8. Momma C, Chichkov B, Nolte S, von Alvensleben F, Tunnermann A, Welling H (1996) Short-pulse laser ablation of solid targets. *Opt Commun* 129:134–142
9. Nolte S, Momma C, Jacobs H, Tunnermann A, Chichkov BN, Wellegehausen B, Welling H (1997) Ablation of metals by ultrashort laser pulses. *J Optical Soc Am B* 14:2716–2722
10. Pronko PP, Dutta SK, Squier SJ, Rudd JV, Du D, Mourou G (1995) Machining of sub-micron holes using a femtosecond laser at 800 nm. *Opt Commun* 114:106–110
11. Stuart BC, Feit MD, Herman S, Rubenchik AM, Shore BW, Perry M (1996) Optical ablation by high-power short-pulse lasers. *J Opt Soc Am B* 13:459–468
12. Varel H, Ashkenasi D, Rosenfeld A, Wähler M, Campbell EEB (1997) Micromachining of quartz with ultrashort laser pulses. *Appl Phys A* 65:367–373
13. Lizarelli RF, Costa MM, Carvalho-Filho E, Nunes FD, Bagnato VS (2007) Selective ablation of dental enamel and dentin using femtosecond laser pulses. *Laser Phys Lett* 5:63–69
14. Mourou G, Strickland D (1985) Compression of amplified chirped optical pulses. *Opt Commun* 55:447–449
15. Kruger J, Kautek W, Newesely H (1999) Femtosecond-pulse laser ablation of dental hydroxyapatite and single-crystalline fluoroapatite. *Appl Phys A* 69(Suppl):S403–S407
16. Pike P, Parigger C, Splinter R, Lockhart P (2007) Temperature distribution in dental tissue after interaction with femtosecond laser pulses. *Appl Opt* 46:8374–8378
17. Girard B, Cloutier M, Wilson DJ, Clokie CML, Miller RJD, Wilson BC (2007) Microtomographic analysis of healing of femtosecond laser bone calvarial wounds compared to mechanical instruments in mice with and without application of BMP-7. *Lasers Surg Med* 39:458–467
18. Girard B, Yu D, Armstrong MR, Wilson BC, Clokie CML, Dwayne RJ (2007) Effects of femtosecond laser irradiation on osseous tissues. *Lasers Surg Med* 39:273–285
19. Liu Y, Niemz M (2007) Ablation of femoral bone with femtosecond laser pulses – a feasibility study. *Lasers Med Sci* 22:171–174. doi:10.1007/s10103-006-0424-8
20. Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF (2007) Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. *Lasers Med Sci* 22:175–182. doi:10.1007/s10103-006-0426-6
21. Rubenchik AM, Da Silva LB, Feit MD, Lane SM, London RA, Perry MD, Stuart BC, Neev J (1996) Dental tissue processing with ultrashort-pulsed laser. In: Wigdor HA (ed) *Lasers in dentistry II*. Proc SPIE 2672:222–230
22. Lizarelli RF, Kurachi C, Misoguti L, Bagnato VS (2000) A comparative study of nanosecond and picosecond laser ablation in enamel: morphological aspects. *J Clin Laser Med Surg* 18:151–157
23. Eberhard J, Bode K, Hedderich J, Jepsen S (2008) Cavity size difference after caries removal by fluorescence-controlled Er:YAG laser and by conventional bur treatment. *Clin Oral Investig* 12:311–318

III.2. Portillo M, Lorenzo MC, Moreno P, García A, Montero J, Ceballos L, Fuentes MV, Albaladejo A.

Influence of Er:YAG and Ti:sapphire laser irradiation on the microtensile bond strength of several adhesives to dentin.

Lasers Med Sci. 2013 May 16 [Epub ahead of print]. DOI 10.1007/s10103-013-1343-0.

ISSN: 0268-8921.

Índice de Impacto: 2.402 - JCR Science Edition: 2012.

Categoría: Surgery.

Posición en la categoría: 45 de 195 (T1/Q1).

RESUMEN:

El objetivo del estudio fue evaluar la influencia de la irradiación con láser de Er:YAG y de Ti:Zafiro sobre la fuerza de adhesión a la dentina de tres sistemas adhesivos diferentes. Las superficies pulidas de dentina obtenidas de 27 molares se dividieron en tres grupos de acuerdo a la irradiación láser recibida: control, láser de Er:YAG (2,940 nm, 100 μ s, 2.7 W, 9 Hz) y láser de Ti:Zafiro (795 nm, 120 fs, 1 W, 1kHz). Cada grupo fue a su vez dividido en tres subgrupos según el sistema adhesivo utilizado: adhesivo de grabado total en dos pasos (Adper Scotchbond 1 XT –XT-), adhesivo de autograbado en dos pasos (Clearfil SE Bond –CSE-) y adhesivo de autograbado en un paso (Optibond All-in-One–OAO-). Tras 24 horas de almacenamiento en agua, se obtuvieron barras de aproximadamente 1 mm² mediante cortes longitudinales de la muestra. Cada barra fue sometida al test de microtracción en una máquina Instron. Además, se utilizaron quince especímenes de dentina pulidos para el análisis morfológico mediante microscopio electrónico de barrido. Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA, test chi-cuadrado y regresión lineal múltiple ($p < 0.05$). En el grupo control el adhesivo XT obtuvo valores de adhesión más altos que los obtenidos en los

grupos tratados con láser, los cuales permanecieron iguales. Con el adhesivo CSE también se obtuvieron mayores valores de adhesión cuando no se aplicó láser que cuando se aplicó; dentro de los grupos donde se aplicó láser, con el láser de Er:YAG se obtuvieron mayores valores de adhesión que con el de Ti:Zafiro. Cuando se utilizó el adhesivo OAO, los valores de adhesión fueron iguales para los tres grupos. Con el CSE se encontraron los mayores valores de adhesión independientemente del tratamiento aplicado en la superficie. La irradiación con láser de Er:YAG o de Ti:Zafiro reduce la eficiencia adhesiva cuando se aplica un adhesivo de grabado total en dos pasos o de autograbado en dos pasos; sin embargo, ésta no se ve alterada cuando se utiliza un adhesivo autograbador en un paso.

Influence of Er:YAG and Ti:sapphire laser irradiation on the microtensile bond strength of several adhesives to dentin

M. Portillo · M. C. Lorenzo · P. Moreno · A. García ·
J. Montero · L. Ceballos · M. V. Fuentes · A. Albaladejo

Received: 1 February 2013 / Accepted: 29 April 2013
© Springer-Verlag London 2013

Abstract The aim of the present study was to evaluate the influence of erbium:yttrium–aluminum–garnet (Er:YAG) and Ti:sapphire laser irradiation on the microtensile bond strength (MTBS) of three different adhesive systems to dentin. Flat dentin surfaces from 27 molars were divided into three groups according to laser irradiation: control, Er:YAG (2,940 nm, 100 μ s, 2.7 W, 9 Hz) and Ti:sapphire laser (795 nm, 120 fs, 1 W, 1 kHz). Each group was divided into three subgroups according to the adhesive system used: two-step total-etching adhesive (Adper Scotchbond 1 XT, from now on XT), two-step self-etching adhesive (Clearfil SE Bond, from now on CSE), and all-in-one self-etching adhesive (Optibond All-in-One, from now on OAO). After 24 h of water storage, beams of section at 1 mm² were longitudinally cut from the samples. Each beam underwent traction test in an Instron machine. Fifteen polished dentin specimens were used for the surface morphology analysis by scanning electron microscopy (SEM). Failure modes of representative debonded microbars were SEM-assessed. Data were analyzed by ANOVA, chi-square test, and multiple linear regression ($p < 0.05$). In the control group, XT obtained higher MTBS than that of laser groups that performed equally. CSE

showed higher MTBS without laser than that with laser groups, where Er:YAG attained higher MTBS than ultrashort laser. When OAO was used, MTBS values were equal in the three treatments. CSE obtained the highest MTBS regardless of the surface treatment applied. The Er:YAG and ultrashort laser irradiation reduce the bonding effectiveness when a two-step total-etching adhesive or a two-step self-etching adhesive are used and do not affect their effectiveness when an all-in-one self-etching adhesive is applied.

Keywords Femtosecond · Laser · Dentin · Bond strength · Adhesion

Introduction

Nowadays, new techniques have been developed in an attempt to avoid thermal damage, improve adhesion, and simplify clinical bonding procedures. Two main technological research fields drive this evolution: (1) new adhesive systems and (2) the use of different lasers.

Adhesive systems have evolved in the course of several generations, and manufacturers have also invested in simplified adhesives, aiming for fast and easy use and to improve bond strength [1]. Thus, the traditional application of the conditioner, primer, and adhesive in three stages has been replaced by the following three different product categories: (1) adhesive systems in which the primer and the adhesive are applied simultaneously after acid etching; (2) the self-etching primers, in which the acid-etching stage and the primer take place at the same time, followed by the application of the adhesive; and (3) the self-etching adhesives that are characterized by the acid etching, primer, and adhesives stages occurring at the same time [2, 3]. With new self-etching adhesive systems, the dentinal smear layer is no longer completely eliminated but treated like a substrate [2, 3].

M. Portillo (✉) · M. C. Lorenzo · J. Montero · A. Albaladejo
Dental School, Faculty of Medicine, Department of Surgery,
University of Salamanca, Prolongación del Paseo
de la Universidad de Coimbra S/N.,
37007 Salamanca, Spain
e-mail: maryzar03@gmail.com

P. Moreno · A. García
Laser Microprocessing Research Group, University of Salamanca,
Plaza de la Merced s/n,
37008 Salamanca, Spain

L. Ceballos · M. V. Fuentes
Department of Stomatology, Health Sciences Faculty, Rey Juan
Carlos University, 28922 Alcorcón, Madrid, Spain

Published online: 16 May 2013

 Springer

Erbium lasers were introduced into dentistry specifically as an alternative to traditional mechanical instrumentation for tooth structure preparation [4–8]. The erbium:yttrium–aluminum–garnet (Er:YAG) laser emits energy at a wavelength of 2,940 nm [4]. This wavelength coincides with the major absorption peak of water, an important component of dental hard tissues, and is very close to the absorption peak of hydroxyapatite [4]. Despite its efficiency, reported bond strengths of composite resin to tooth substrate prepared by erbium laser are often confusing and contradictory. Some studies have reported higher bond strengths to laser-prepared dentin [8–10]. Others have reported significantly lower bond strengths [6, 11–17], and others have reported no significant differences [18]. These negative effects are related to the presence of subsurface microcracks and the chemical alterations that occurred in the dentin composition, especially its organic matrix [19].

The titanium:sapphire laser was introduced by Moulton in 1986 [20]. The usefulness of ultrashort pulsed lasers is the result of the combination of pulse duration and intensity. Namely, they allow access to nonlinear physical events that happen on subpicosecond time scale [21]. Recently, several experiments on ultrashort laser ablation of dentin have been described [22–31]. All of them indicated that the high beam quality and short pulse duration of the ultrafast laser used should allow the accurate preparation of cavities, with negligible damage of the underlying material.

There is only one study available in the literature that describes the influence of ultrashort laser treatment on the shear bond strength of composite resin to dentin [26]. In that work, submicrometer-sized patterns on the surface of human dentin were produced to enhance adhesion. However, the researchers did not process the whole surface of the dentin specimen, restricted the study to a two-step self-etching adhesive, and did not compare the results with Er:YAG laser-processed surfaces.

Accordingly, the aim of the present study was to evaluate the influence of Er:YAG and Ti:sapphire laser irradiation on the microtensile bond strength (MTBS) of three different adhesive systems to dentin.

Materials and methods

A total of 27 caries-free human third molars, freshly extracted within a 6-month period and stored in distilled water at 4 °C, were selected and cleaned with an ultrasonic system (Suprasson P5 Booster, Acteon Satelec, Merignac, France). After this, a polishing paste (Detartrine, Septodont, Saint Maur, France) was used to remove the adherent tissues from the tooth surface.

Dentin specimen preparation

The specimens were sectioned transversely at a distance of 4 mm from the occlusal surface using a precision cutting machine (IsoMet 5000; Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) and grinding diamond disks (IsoMet Wafering Blade Series 15LC; Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) with abundant water coolant in order to remove the enamel and expose a large surface of dentin. Then, the exposed dentin surfaces of each sample were grounded perpendicular to the long axis of the tooth with sandpaper granulated at 600 grit in a polishing machine (Phoenix Beta; Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) under running water to provide the formation of a standardized smear layer.

Dentin surfaces were controlled for the absence of enamel and pulp tissue using an Axio M1 (Carl Zeiss, Jena, Germany) light microscope. We used Epiplan $\times 20$ and $\times 50$ HD objectives (Carl Zeiss Vision, Aalen, Germany), attached to a 1,300 \times 1,030-pixel digital camera (AxioCam HR, Carl Zeiss Vision, Aalen, Germany).

The roots were removed using a diamond bur, and the pulp tissue was removed from its coronal parts. This cavity was filled with Filtek Z 250 composite (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) and adhesive technique (Clearfil SE Bond, Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan).

Experimental groups

Once the samples were prepared, they were randomly divided into three experimental groups according to the dentin treatment: control, Er:YAG laser, and Ti:sapphire laser. Each group was divided into three subgroups according to the adhesive system to be used: a two-step total-etching adhesive (Adper Scotchbond 1 XT, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (XT); a two-step self-etching adhesive (Clearfil SE Bond, Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan) (CSE); and an all-in-one self-etching adhesive (Optibond All-in-One, Kerr, Orange, CA, USA) (OAO), as shown in Table 1.

Laser irradiation

Before the application of the adhesive, polished dentin surfaces were irradiated with a different laser system according to the group they belonged to.

Erbium laser

The Er:YAG laser used in this study was a Fidelis Plus III (Fotona, Slovenia), which emits at $\lambda=2940$ nm. The irradiation was performed under the following conditions: 300 mJ/pulse; pulse duration: 100 μ s, 9 Hz; a focal distance of 15 mm; and a beam spot size of 0.9 mm with a noncontact hand piece (R14), using a water spray until the surface was completely irradiated.

Table 1 Manufacturers, compositions and mode of application of tested adhesives

Materials	Manufacturers	Composition	Mode/steps of application
Adper Scotchbond 1 XT-XT	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	bisGMA, HEMA, dimethacrylates, ethanol, water, photoinitiator, stem spherical silica particles Methacrylate, copolymer of polyacrylic and polyitaconic acids	Each enamel for 30 s and dentine for 10 s, rinse with air and water spray for 10 s, and blot excess water using a cotton pellet Immediately after blotting, apply 2–3 consecutive coats of adhesive to etched enamel and dentine for 15 s, with gentle agitation using a fully saturated applicator. Gently air thin for 5 s to evaporate solvent. Light cure for 10 s.
Clearfil SE, Bond CSE	Kuraray Medical Osaka Japan	1. PRIMER (self-etching primer) MDP, HEMA, hydrophilic dimethacrylate DL-camphorquinone <i>N-N</i> -diethanol- <i>p</i> -toluidine water 2. BOND (bonding agent) MDP, bisGMA HEMA hydrophobic dimethacrylate DL-camphorquinone <i>N-N</i> diethanol- <i>p</i> -toluidine silanated colloidal silica	Primer 1. Dispense the necessary amount of PRIMER into a well of the mixing dish immediately before application. 2. Apply PRIMER to the entire cavity wall with sponge or a disposable brush tip. Leave it in place for 20 s. Use caution not to allow saliva or exudate to contact the treated surfaces for at least 20 s. 3. After conditioning the tooth surface for 20 s evaporate the volatile ingredients with a mild oil-free stream. Bond 1. Dispense the necessary amount of BOND into a well of the mixing dish. 2. Apply BOND to the entire surface of the cavity with a sponge or disposable brush tip. 3. After application, make the bond film as uniform as possible using gentle oil-free air stream. 4. Light cure the BOND for 10 s with a visible light-curing activator.
Optibond All-in-one OAO	Kerr Orange, CA, USA	GPDM, HEMA, GDMA, bisGMA water acetone, ethanol CQ silica filler sodium, hexafluorosilicate	(1) Shake, (2) dispense, (3) close immediately, (4) dip brush, (5) apply first application with scrubbing motion (20 s), (6) dip brush, (7) apply second application with scrubbing motion, (8) air dry gently then air dry with medium force for at least 5 s, and (9) light cure for 10 s
Composite Z 250	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Inorganic filler (zirconium silica) loading is 60 % by volume with a particle size range of 0.01 to 3.5 microns. bisGMA, UDMA, and bisEMA, enco-re-GMA, UDMA, enco-re-EMU, zirconium/silicon 60 % (0.01 to 3.5 μm)	

MDP 10-methacryloxydecyl dihydrogen phosphate; *HEMA* 2-hydroxyethyl methacrylate; *PI* photoinitiator; *bisGMA* 2,2-bis(4-(2-hydroxy-3-methacryloxypropoxy)phenyl)propane; *bisEMA(6)* bisphenol A polyethylene glycol diether dimethacrylate; *UDMA* urethane dimethacrylate; *TEGDMA* tri[ethylene glycol] dimethacrylate; *A174* gamma-methacryloxypropyltrimethoxysilane; *BHT* 2,6-di-(*tert*-butyl)-4-methylphenol; *BSA* benzene sulfonic acid sodium salt; *CQ* 1,7,7-trimethylbicyclo-[2, 2, 1]-hepta-2,3-dione; *EtOH* ethanol; *GDM* glycerol dimethacrylate; *GPDM* glycerol phosphate dimethacrylate; *HFGA-GDM* hexafluoroglutaric anhydride-glyceroldimethacrylate adduct; *EHQ* 4-methoxyphenol; *Na2 Si6 F* disodium hexafluorosilicate; *ODMAB* 2-(ethylhexyl)-4-(dimethylamino)benzoate; *OX-50* fumed silicon dioxide; *PAMA* phthalic acid monomethacrylate; *SP345* barium aluminoborosilicate; *TS530* fumed silicon dioxide

Ti:sapphire laser

The laser system consists of a Ti:sapphire oscillator (Tsunami; Spectra Physics, USA), which provides pulses in the near infrared ($\lambda=795$ nm) and a duration of approximately 120 fs and energies of the order of 10 nJ. These energies are too low

to produce massive ablation of the materials, so, in order to provide them with sufficient energy, they will be amplified with a system called regenerative (Spectra Physics, Spitfire) based on the chirped pulse amplification technique. Finally, the pulses were 120 fs long with a repetition rate of 1 kHz and the maximum pulse energy was 1 mJ. The pulse energy was

finely controlled by a half-wave plate and a linear polarizer. Neutral density filters were used when further energy reduction was required. The average power of the beam was measured with a thermopile detector (407A, Spectra Physics, USA). The transversal mode is nearly a Gaussian TEM₀₀ with a 9-mm beam diameter (at $1/e^2$). The laser pulses were focused by means of an achromatic doublet lens ($f=100$ mm). The spot size with this focusing system has a diameter of approximately 12 μm .

The specimens were fixed on a computer-controlled XYZ motorized stage (Micos ES100, Nanotec, Germany). The laser pulses impinged vertically on the dentin surfaces. Horizontal movements XY allowed to scan the area to be microstructured. The laser beam was defocused by elevating the samples to 1 mm, in order to obtain a more uniform pattern across the surface, thus minimizing the depth of the grooves generated by laser ablation. The pulse energy was 0.045 mJ, the scanning velocity was 0.5 mm/s, and the scanning step was 0.03 mm. We processed the specimens in a saturated vapor atmosphere to preserve the tissues from drying.

Adhesive system and sample restoration

The adhesives of each subgroup were bonded to the dentin surfaces according to the manufacturer's instructions. The mode of application, components, and manufacturers of these adhesives are shown in Table 1.

After photopolymerization of the adhesive, a resin-based composite crown was constructed with 1.5-mm layers of Filtek Z 250 composite (3M ESPE, St Paul, MN, USA) to reach a height of approximately 4–5 mm. Each layer was photocured for 10 s with a LED light-curing unit (Bluephase G2; Ivoclar Vivadent, Liechtenstein). Light intensity output was monitored with a curing radiometer (Bluephase Meter, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) to be at least 1,000 mW/cm².

Microtensile bond strength test

After a 24-h water storage at 37 °C, to permit adequate water absorption and equilibration, the specimens were then serially sectioned in a longitudinal manner into 1-mm-thick slabs using a low-speed diamond saw under water cooling (Isomet 5000; Buehler, USA). Each slab was sectioned into beams with a cross-sectional area of approximately 1 mm² using a low-speed diamond saw, following the method described by Shono et al. [32]. Approximately 50 beams resulted from each subgroup, and these were submitted to MTBS evaluation, using a universal testing machine (Instron 3345; Instron Corp., USA), running at a crosshead speed of 0.5 mm/min until fracture.

Failure mode analysis

Fracture specimens were examined with an optical microscope Axio M1 (Carl Zeiss, Germany) at $\times 40$ magnification to determine the mode of failure. Failure modes were classified as adhesive (no signs of dentin fracture or remnants of resin on the tooth, failure in adhesion), cohesive (complete fracture of dentin or resin, failure of the tooth substrate, or failure of the resin composite), or mixed (samples showing both adhesive and cohesive failures).

Scanning electron microscope analysis

Fifteen dentin specimens, cut and polished as they were for MTBS test, were treated according to the three different procedures (control, Er:YAG laser, and Ti:sapphire laser) for surface morphology analysis with a variable pressure scanning electron microscope (Zeiss EVO MA25; Carl Zeiss, Germany). Specific regions across the surface were explored to obtain a paramount view of the effect of laser processing.

In addition, representative fractured specimens from each subgroup were dehydrated for 48 h in a desiccator (Sample Dry Keeper Simulate Corp., Japan) and then mounted on aluminum stubs with carbon cement. They were sputter coated with pure gold by means of a sputter-coating Unit E500 (Polaron Equipment Ltd., Watford, England) and then observed with the same scanning electron microscope in order to examine the morphology of the debonded interfaces.

Statistical analysis

The bond strength values were measured in megapascal. The data were analyzed with SPSS v16 (Statistical Package for the Social sciences, Chicago, IL), using a p value below 0.05 as threshold for the statistical significance. ANOVA test was applied for comparing the MTBS values between dentin treatment and type of adhesive subgroups, respectively. When ANOVA test detected significant differences, Bonferroni post hoc comparisons were performed to quantify the differences between two subgroups. Then, a multiple linear regression analysis was performed using MTBS as the dependent variable, and the laser treatment and adhesive treatment were introduced as predictors being transformed each one into two dummy variables. For the adhesive predictor, the two dichotomous variables created for either CSE or OAO used the XT subgroup as reference. For the laser treatment, both the Er:YAG and the Ti:sapphire laser used the control subgroup as reference. The chi-square test was used to detect differences in the type of failures among the adhesive subgroups.

Results

Microtensile bond strength test

Means and standard deviations of MTBS are summarized per experimental subgroup in Table 2. The results of the Bonferroni post hoc comparisons showed that when laser was not applied as well as when the surface was irradiated with one of the two lasers used in this study (Er:YAG and Ti:sapphire), CSE showed higher MTBS values than XT and OAO, which showed no statistically significant difference. When XT was used, the MTBS values were statistically higher in the control group than in the laser groups (Er:YAG and Ti:sapphire), which were not statistically different. When CSE was applied, the MTBS values were statistically higher in the control group than in the laser groups (Er:YAG and Ti:sapphire), where the Er:YAG obtained values statistically higher than the Ti:sapphire laser. Finally, when OAO was used, the ANOVA revealed no statistical difference on MTBS values within the experimental groups.

The linear regression model ($R^2=0.38$; $F=66.19$; $p<0.001$) revealed a significant decrease of 7.6 and 4.6 MPa in MTBS when Ti:sapphire laser and Er:YAG laser were used, respectively, instead of the control group ($p<0.001$, data not shown). When CSE was applied, the MTBS mean values increased significantly—11.1 MPa— as compared to XT. However, there was no statistically significant difference between the application of XT and OAO.

Failure mode analysis

The main failure mode in specimens showing low bond strengths was mixed failure, while cohesive failures were observed with higher bond strengths ($F=13.205$; $p<0.001$, data not shown). Adhesive failure was predominantly observed in the control and Ti:sapphire laser groups. Conversely, mixed failures took place predominantly in the Er:YAG group. The cohesive failures were predominantly observed

in the CSE group. Among the control group, XT produced significantly higher rates of mixed failures. Among the Er:YAG group, OAO produced significantly higher rates of mixed failures than its counterparts (Table 3).

Scanning electron microscopy

Analysis of surface treatment

The scanning electron microscope (SEM) micrographs in Fig. 1a, b show the morphology of the dentin surface after ultrashort pulsed laser irradiation. The processed surfaces present an irregular and rough appearance (Fig. 1a). The smear layer was entirely removed by the laser treatment, and some dentinal tubules are exposed and open (labeled in white) (Fig. 1b). No sign of melted material or microcracks are observed in the SEM images.

Failure mode analysis

Representative SEM micrographs of fractured specimens interface after MTBS tests are presented in Fig. 2a–f.

Figure 2a shows a representative micrograph of a fractured dentin–adhesive interface from the dentin side when CSE was bonded to raw and laser-treated dentin— mixed failure. At higher magnification, a microcrack can be clearly observed (Fig. 2b).

Figure 2c shows a representative micrograph of a fractured dentin–adhesive interface at the dentin side when CSE was bonded to Er:YAG laser-irradiated dentin—mixed failure with some resin composite on the surface. At higher magnification, a rough surface with some partially obliterated dentinal tubules can be observed (labeled in white) (Fig. 2d).

Figure 2e shows a representative micrograph of a fractured dentin–adhesive interface at the dentin side when CSE was bonded to Ti:sapphire laser-irradiated dentin—adhesive failure. At higher magnification, a rougher surface than that in the Er:YAG group with some partially obliterated dentinal tubules can be observed (labeled in white) (Fig. 2f).

Discussion

In order to study the bonding effectiveness of composite resin to laser-irradiated dentin (Er:YAG and Ti:sapphire laser), we selected three commercially available adhesives that represent the most common adhesives used in dentistry: (1) a two-step total-etching (XT), (2) a two-step self-etching (CSE), and (3) an all-in-one self-etching adhesive (OAO). The overall conclusion of the study is that not only the adhesive system but also the laser irradiation influences the bond strength of composite resin to dentin.

Table 2 Descriptive statistics of microtensile bond strength in megapascals of the specimens tested

	Control M (SD)	Er:YAG laser M (SD)	Ti:sapphire laser M (SD)
Adper Scotchbond 1XT	28.2 (8.0) Ba	23.9 (8.0) Bb	22.4 (8.2) Bb
Clearfil SE Bond	43.3 (10.9) Aa	34.9 (10.4) Ab	29.2 (6.7) Ac
Optibond All-in-One	24.1 (7.4) Ba	23.9 (5.9) Ba	21.0 (7.5) Ba

ANOVA test: $F=37.542$; $p<0.001$. Mean values followed by the same lowercase letter in rows and the same uppercase letter in columns were not significantly different

M mean, SD standard deviation

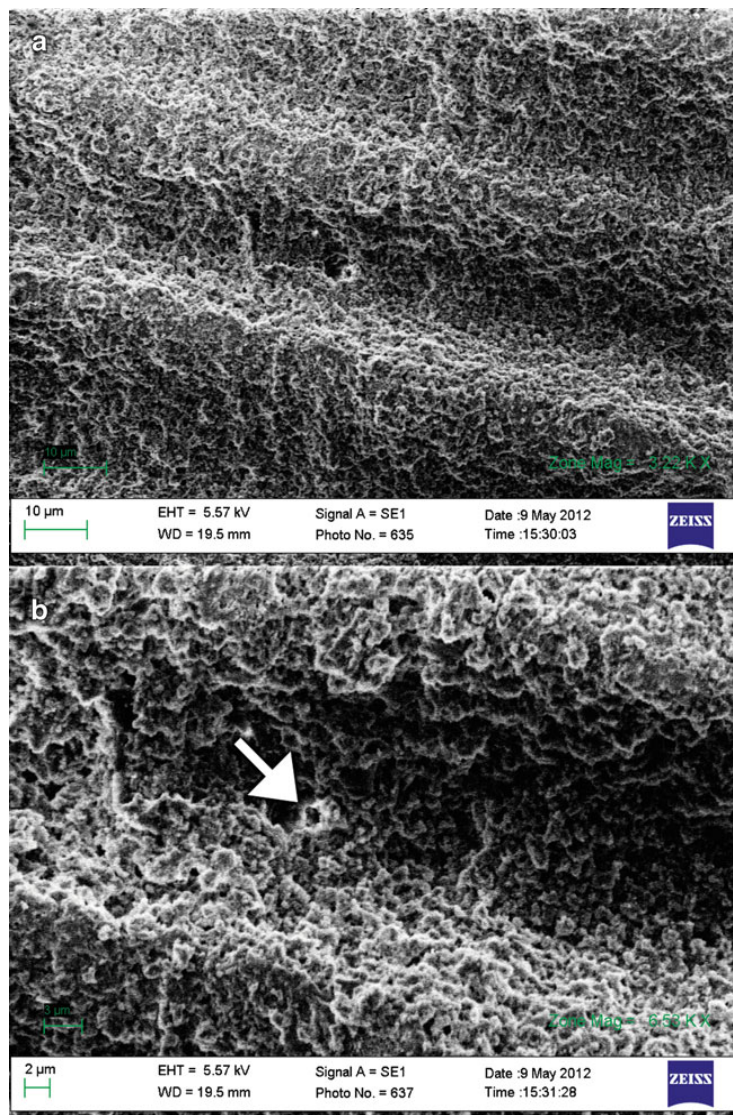
Table 3 Cross-tabulation of the effect of laser irradiation within the laser group specimens among the adhesive groups on the type of failure (adhesive, cohesive, and mixed)

Failure mode	Control, <i>n</i> (%)			Er:YAG laser, <i>n</i> (%)			Ti:sapphire laser, <i>n</i> (%)		
	XT	CSE	OAO	XT	CSE	OAO	XT	CSE	OAO
Adhesive	23 (34.8)	33 (66.0)	30 (76.9)	11 (26.2)	10 (17.2)	1 (2.9)	26 (55.3)	28 (63.6)	32 (50.0)
Cohesive	5 (7.6)	13 (26.0)	0 (0.0)	1 (2.4)	4 (6.9)	1 (2.9)	1 (2.1)	1 (2.3)	0 (0.0)
Mixed	38 (57.6)	4 (8.0)	9 (23.1)	30 (71.4)	44 (75.9)	32 (94.1)	20 (42.6)	15 (34.1)	32 (50.0)
	Chi-square=46.439; <i>p</i> <0.001			Chi-square=8.937; <i>p</i> =0.06			Chi-square=3.818; <i>p</i> =0.43		

The linear regression model revealed a significant decrease by 7.6 and 4.6 MPa in MTBS when Ti:sapphire laser and Er:YAG laser were used. When a two-step total-etching

(XT) and a two-step self-etching (CSE) were applied, the Ti:sapphire group obtained lower MTBS values than the control group; however, no statistical differences were

Fig. 1 SEM micrographs of dentin surface after Ti:sapphire laser irradiation at 5.57 kV. Original magnification: **a** ×3,200 and **b** ×6,530



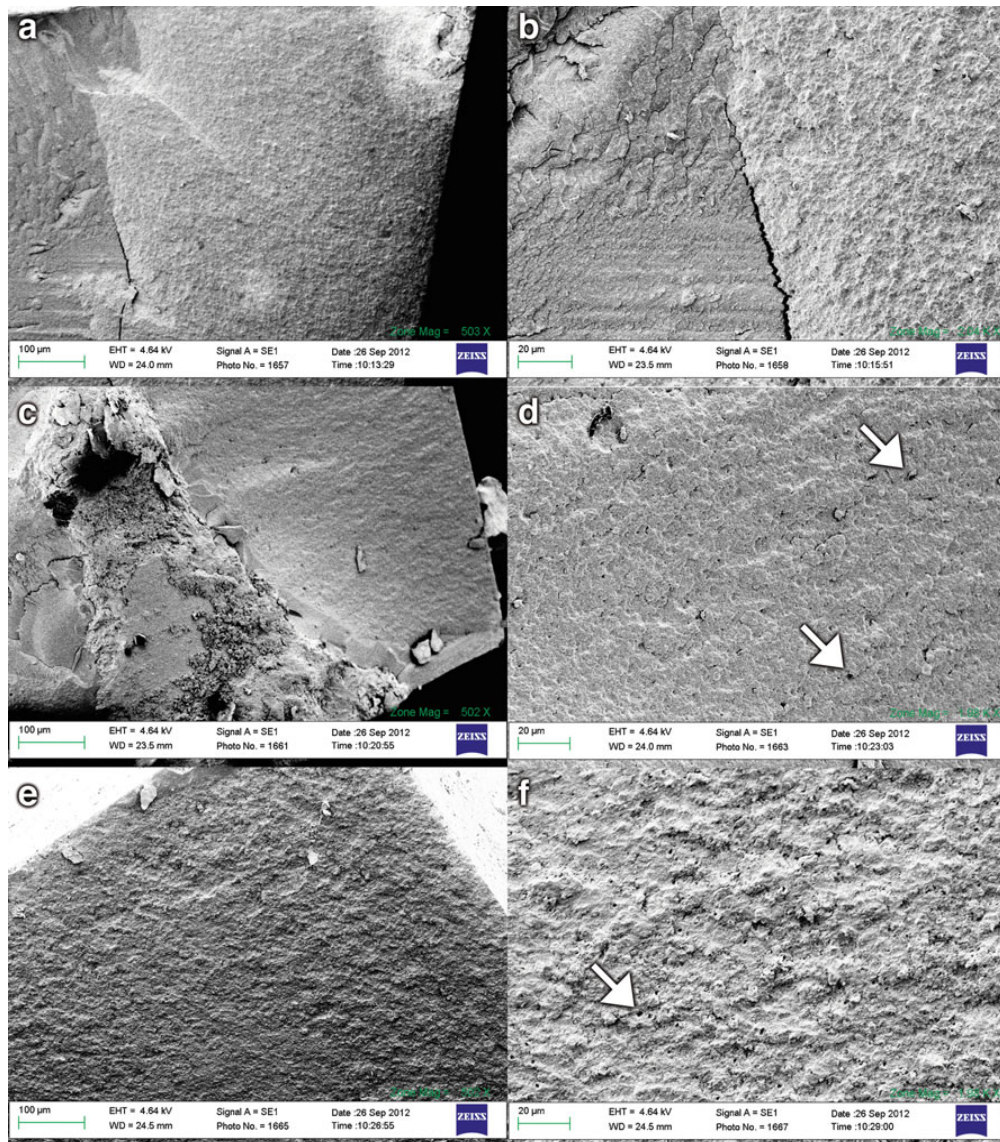


Fig. 2 SEM micrographs of the debonded dentin specimen from Clearfil SE at 4.64 kV: control (a, b), Er:YAG laser (c, d), and Ti:sapphire laser (e, f) groups. Original magnification: $\times 500$ (left column); $\times 2,000$ (right column)

observed when an all-in-one self-etching adhesive (OAO) was used. As far as we know, this is the first time that the influence of ultrashort laser irradiation on the microtensile bond strength of three dentin adhesives used in routine clinical practice has been studied. Gerhardt-Szep et al. reported the effect of submicrometer-sized patterns generated with ultrashort laser treatment to improve bonding effectiveness of dentin–resin adhesion interface with CSE. They introduced an artificial microstructure on the surface consisting of grooves separated 80 or 160 μm from each other with areas of intact dentin in between and concluded that

dentin treatment with ultrashort laser in a 160- μm -sized cross pattern did not significantly affect shear bond strength (SBS) as compared with the control group, whereas the same cross pattern with half the pitch resulted in significantly lower SBS [26].

Laser ablation of the dentin by ultrashort lasers was previously studied by several authors [22–25, 27–29, 31]. These previous studies showed that the irradiated dentin presents an irregular and rough appearance with no signs of melting, deformation, cracking, or carbonization. Moreover, the chemical dentin composition is not significantly modified by the ultrashort laser treatment [31], but they did

not study the possible denaturation of the collagen fibrils that could take place. Alves et al. observed that the surface resulting from treatment with ultrashort lasers should be favorable to standard bonding procedures because it presents a microretentive irregular topography, free of smear layer, and with open dentinal tubules [31], as can be observed in SEM micrographs of the dentin surface after Ti:sapphire laser irradiation (Fig. 1); however, these observations are not in accordance with the results obtained in our study, which showed that these morphological characteristics do not improve the MTBS independent of the type of dentin adhesive used. The main factors that could explain these results are as follows: (1) Despite the fact that the surface roughness of laser-irradiated dentin was significantly higher than that for acid-etched dentin, these irregularities were so prominent that they may decrease the bond strength by preventing uniform stress distribution at the adhesive–dentin interface. Moreover, these irregularities produce a non-uniform hybrid layer that results in a decrease of the bonding effectiveness of adhesives to the dentin [33], as was suggested by Tay et al. who observed the absence of correlation between hybrid layer thickness and bonding efficacy as long as a uniform demineralization front is created within the underlying dentin that is fully impregnated by resin [34]. (2) Despite that the chemical dentin composition was not being significantly modified by the ultrashort laser treatment [31], the ablation of dentin could melt collagen fibrils, resulting in a lack of the interfibrillar space necessary for the diffusion of the adhesive. This lack of resin penetration could explain the lower bond strengths [6, 35], while, at the same time, this decalcified noninfiltrated zone at the base of the hybrid layer is susceptible to degradation as time goes by [2].

In the present study, the Er:YAG processed specimens performed worse than the control group, regardless of the adhesive system used with the exception of OAO, and no statistical difference was observed. Contradictory results in MTBS test after Er:YAG laser treatment may be found in the literature because of the wide range of different experimental setups. Li et al. explained that Er:YAG laser ablates hard tissues, inducing microexplosions within inorganic structures in teeth. Initially, Er:YAG pulses vaporize water and other hydrated organic components until internal pressure causes the explosion of the inorganic component [36]. Tachibana et al. observed that irradiated dentin presented opened dentinal tubules with protruded peritubular dentin distributed on a scaly surface free of smear layer. These characteristics may contribute to an increase in the effective adhesion surface [16]; however, the morphology of the dentin surface is not the only factor relevant to bonding. According to Ceballos et al. the irradiated dentin showed a superficial layer that consists of a scaly surface where the collagen fibrils are completely melted and vaporized [6].

This superficial layer varied in appearance and thickness, depending on the pulse energy. The basal part contains the rest of the denatured collagen fibrils that were fused and weakly attached to the underlying dentin with reduced interfibrillary spaces [6]. The presence of this layer prevents deep infiltration of the adhesive, resulting in lower bond strength values [6]. Despite the controversy, researchers have reached some degree of agreement on the fact that Er:YAG irradiation of dentin negatively affects the bonding effectiveness of resin-based adhesives [6, 11]. The results of the present study agree with these studies in which the bond strength of different adhesive systems applied to Er:YAG-irradiated dentin was tested until failure, and the interfacial morphology was observed under SEM. De Munck et al. concluded that the total and self-etching adhesives bonded significantly less effectively to Er:YAG-processed dentin than to bur-cut dentin. The subsurface damage initiated by Er:YAG ablation is probably the main reason for the decrease in MTBS and might compromise clinical bonding in the long term [13]. Brulat et al. also showed lower adhesion values for the Er:YAG-irradiated dentin with different self-etching adhesive systems [17].

The two-step self-etching adhesive (CSE) exhibited the highest bond strengths compared with the two other adhesives, both in the control and laser groups (Er:YAG and Ti:sapphire). These results are in agreement with results of other authors [17, 37–39]. CSE is an ultra-mild self-etching adhesive (pH=2.7). Its low acidity produces a considerably reduced ability to dissolve the smear layer and demineralizes the underlying dentin [40], and it can only superficially expose collagen on dentin, creating a characteristic nanometric hybrid layer. However, an effective and stable chemical bonding to the mineral content of the partially demineralized dentin resulting in higher MTBS is made possible by the presence of 10-MDP in its composition [3, 40]. By the way, it plays an important role in resisting long-term hydrolytic degradation [9, 13, 16, 17].

When comparing the two self-etching adhesives, the OAO showed lower adhesion values than the two-step adhesive (CSE); however, the total-etching adhesive (XT) showed no statistical differences with OAO. These results are in agreement with those of previous studies reporting lower values obtained with the all-in-one adhesives as compared to the two-step self-etching adhesives [17, 37, 40]. The all-in-one adhesives are more hydrophilic than the two-step self-etching adhesives. This hydrophilicity could result in stronger water absorption by the adhesive resin, which could act as a semipermeable membrane that allows water transport and therefore could affect its mechanical properties. By the way, this could contribute to the hydrolysis of resin polymers and the subsequent degradation of the tooth–resin bond [17, 37]. In addition, the all-in-one adhesives are less viscous, which makes them difficult to fix properly

[40]. These properties may lead to a wide variety of seemingly unrelated problems that may jeopardize the effectiveness and stability of adhesion to the dentin [40].

The dentin–composite–adhesive interface consists of a complex structure with many potential fracture locations [41]. The final pattern of fracture at this interface is determined by local stress distribution during the test, crack propagation, material structure properties, and dynamics of the fracture itself. Based on these facts, fracture sites highlight differences in the methodology of the experiments or the sample shapes submitted to microtensile test [38]. In our study, the predominant failure mode in specimens showing low bond strengths was mixed failure, whereas cohesive failures were mainly observed associated to higher bond strengths.

Ultrashort laser conditioning of the dentin is influenced by different parameters: wavelength, pulse duration, pulse energy, repetition rate, scanning velocity, and step. In our study, the Ti:sapphire laser pulses were applied in the following conditions: 795 nm, 120 fs, 0.045 mJ, 1 kHz, 0.5 mm/s, and 0.03 mm; and the results obtained with different adhesive systems did not improve the MTBS values. Future investigations could focus on the parameters that could enhance the bonding effectiveness of dentin–resin adhesion interface and replace the dentin conditioners used nowadays.

Conclusions

In conclusion, the use of Er:YAG and Ti:sapphire laser for conditioning the dentin did not improve the dentin–resin adhesion interface because laser irradiation reduced the bonding effectiveness when a two-step total-etching adhesive or a two-step self-etching adhesive were used and did not affect this effectiveness when an all-in-one adhesive was applied.

Acknowledgments A.G. and P.M. acknowledge the financial support from the Ministerio de Economía y Competitividad (projects Consolider SAUUL CSD2007-00013 and FIS2009-09522) and Junta de Castilla y León (project SA086A12-2). We are grateful to the Centro de Láseres Pulsados (CLPU, Spain) for allowing free SEM observation of the specimens, and José Antonio Pérez-Hernández (CLPU), for providing good quality SEM images.

References

- Ceballos L, Camejo DG, Victoria Fuentes M, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Pashley DH (2003) Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. *J Dent* 31:469–477
- Toledano M, Osorio R, Albaladejo A, Aguilera FS, Tay FR, Ferrari M (2006) Effect of cyclic loading on the microtensile bond strengths of total-etch and self-etch adhesives. *Oper Dent* 31:25–32
- Albaladejo A, Osorio R, Toledano M, Ferrari M (2010) Hybrid layers of etch-and-rinse versus self-etching adhesive systems. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 15:112–118
- Hibst R, Keller U (1989) Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on the dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med* 9:338–344
- Apel C, Meister J, Ioana RS, Franzen R, Hering P, Gutknecht N (2002) The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in dental enamel. *Lasers Med Sci* 17:246–252
- Ceballos L, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Marshall GW (2002) Bonding to Er:YAG-laser-treated dentin. *J Dent Res* 81:119–122
- Hibst R (2004) Laser for caries removal and cavity preparation: state of the art and future directions. *J Oral Laser Appl* 2:203–212
- Carrieri TC, de Freitas PM, Navarro RS, Eduardo CP, Mori M (2007) Adhesion of composite luting cement to Er:YAG-laser-treated dentin. *Lasers Med Sci* 22:165–170
- Celik C, Ozel Y, Bağış B, Erkut S (2010) Effect of laser irradiation and cavity disinfectant application on the microtensile bond strength of different adhesive systems. *Photomed Laser Surg* 28:267–272
- Bahrami B, Askari N, Tielemans M, Heysselaer D, Lamard L, Peremans A, Nyssen-Behets C, Nammour S (2011) Effect of low fluency dentin conditioning on tensile bond strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin: a preliminary study. *Lasers Med Sci* 26:187–191
- Kameyama A, Kawada E, Takizawa M, Oda Y, Hirai Y (2000) Influence of different acid conditioners on the tensile bond strength of 4-META/MMA-TBB resin to Er:YAG laser-irradiated bovine dentin. *J Adhes Dent* 2:297–304
- Martínez-Insua A, Da Silva DL, Rivera FG (2000) Differences in bonding to acid-etched or Er:YAG-laser-treated enamel and dentin surfaces. *J Prosthet Dent* 84:280–288
- De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G (2002) Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci* 110:322–329
- Botta SB, da Ana PA, Zzell DM, Powers JM, Matos AB (2007) Adhesion after erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser application at three different irradiation conditions. *Laser Med Sci* 24:67–73
- Gurgan S, Kiremitci A, Cakir FY, Yazici E, Gorucu J, Gutknecht N (2009) Shear bond strength of composite bonded to erbium:yttrium-aluminum-garnet laser-prepared dentin. *Lasers Med Sci* 24:117–122
- Tachibana A, Marques MM, Soler JM, Matos AB (2008) Erbium, chromium:yttrium scandium gallium garnet laser for caries removal: influence on bonding of a self-etching adhesive system. *Lasers Med Sci* 23:435–441
- Brulat N, Rocca JP, Leforestier E, Fiorucci G, Nammour S, Bertrand MF (2009) Shear bond strength of self-etching adhesive systems to Er:YAG-laser-prepared dentin. *Lasers Med Sci* 24:53–57
- Obeidi A, Liu PR, Ramp LC, Beck P, Gutknecht N (2010) Acid-etch interval and shear bond strength of Er, Cr:YSGG laser-prepared enamel and dentin. *Lasers Med Sci* 25:363–369
- Bachmann L, Diebold R, Hibst R, Zzell DM (2005) Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 61:2634–2639
- Moulton PF (1986) Spectroscopic and laser characteristics of Ti:Al₂O₃. *J Opt Soc Am* 3:125–133
- Anderson ME, Monmayrant A, Gorza SP, Wasylczyk P, Walmsley I (2008) Spider: a decade of measuring ultrashort pulses. *Laser Physics Letters* 5:259–266

22. Serbin J, Bauer T, Fallnich C, Kasenbacher A, Arnold WH (2002) Femtosecond lasers as novel tool in dental surgery. *Appl Surf Sci* 197:737–740
23. Niemz MH, Kasenbacher A, Strassl M, Backer A, Beyertt A, Nickel D, Giesen A (2004) Tooth ablation using a CPA-free thin disk femtosecond laser system. *Appl Phys B* 79:269–271
24. Lizarelli RF, Costa MM, Carvalho-Filho E, Nunes FD, Bagnato VS (2007) Selective ablation of dental enamel and dentin using femtosecond laser pulses. *Laser Phys Lett* 5:63–69
25. Pike P, Parigger C, Splinter R, Lockhart P (2007) Temperature distribution in dental tissue after interaction with femtosecond laser pulses. *Appl Opt* 46:8374–8378
26. Gerhardt-Szep S, Werelius K, de Weerth F, Heidemann D, Weigl P (2012) Influence of femtosecond laser treatment on shear bond strength of composite resin bonding to human dentin under simulated pulpal pressure. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 100:177–184
27. Rego Filho FD, Dutra-Corrêa M, Nicolodelli G, Bagnato VS, de Araujo MT (2012) Influence of the hydration state on the ultrashort laser ablation of dental hard tissues. *Lasers Med Sci*. doi:10.1007/s10103-012-1118-z
28. Ji L, Li L, Devlin H, Liu Z, Jiao J, Whitehead D (2012) Ti:sapphire femtosecond laser ablation of dental enamel, dentine, and cementum. *Lasers Med Sci* 27:197–204
29. Portillo Muñoz M, Lorenzo Luengo MC, Sánchez Llorente JM, Peix Sánchez M, Albaladejo A, García A, Moreno Pedraz P (2012) Morphological alterations in dentine after mechanical treatment and ultrashort pulse laser irradiation. *Lasers Med Sci* 27:53–58
30. Luengo MC, Portillo M, Sánchez JM, Peix M, Moreno P, García A, Montero J, Albaladejo A (2012) Evaluation of micromorphological changes in tooth enamel after mechanical and ultrafast laser preparation of surface cavities. *Lasers Med Sci*. doi:10.1007/s10103-012-1144-x
31. Alves S, Oliveira V, Vilar R (2012) Femtosecond laser ablation of dentin. *J Phys D: Appl Phys* 45(24): 245401
32. Shono Y, Ogawa T, Terashita M, Carvalho RM, Pashley EL, Pashley DH (1999) Regional measurement of resin-dentin bonding as an array. *J Dent Res* 78:699–705
33. Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB et al (2008) Influence of Er, Cr:YSGG laser treatment on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. *J Adhes Dent* 10:25–33
34. Tay FR, Pashley DH (2001) Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 17:296–308
35. De Carvalho RC, de Freitas PM, Otsuki M, de Eduardo CP, Tagami J (2008) Micro-shear bond strength of Er:YAG-laser-treated dentin. *Lasers Med Sci* 23:117–124
36. Li ZZ, Code JE, Van De Merwe WP (1992) Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg Med* 12:625–630
37. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijai P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G (2003) Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 28:215–235
38. Azevedo L, Cerqueira D, Martins M, Bona A (2005) Influence of Er:YAG laser surface treatment and primer application methods on microtensile bond strength self-etching systems. *Photomed Laser Surg* 23:304–312
39. Oliveira DC, Manhães LA, Marques MM, Matos AB (2005) Microtensile bond strength analysis of different adhesive systems and dentin prepared with high-speed and Er:YAG laser: a comparative study. *Photomed Laser Surg* 23:219–224
40. Cardoso MV, de Almeida NA, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B (2011) Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J* 56(Suppl):31–44
41. Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB (2001) Mode of failure in dentin-adhesive resin-resin composite bonded joint as determined by strength based (mTBS) and fracture-based (CNSB) mechanical testing. *Dent Mater* 17:201–210

III.3. Portillo M, Lorenzo MC, Moreno P, García A, Montero J, Santos del Riego SE., Albaladejo A.

Assessment of the effect of ultrashort pulsed laser microstructuring and acid etching on microtensile bond strength of a total-etching adhesive to dentin.

Enviado a la revista Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials el 29 de Noviembre de 2013. Pendiente de aceptación.

ISSN: 1552-4981

Índice de Impacto: 2.308 - JCR Science Edition: 2012.

Categoría: Engineering Biomedical.

Posición en la categoría: 27 de 79 (T2/Q2).

RESUMEN:

El objetivo del estudio fue comparar las fuerzas de microtensión (MTBS) de un adhesivo de grabado total en dos pasos sobre la dentina tras el acondicionamiento de la misma con láser de pulso ultracorto ($t=120$ fs), grabado con ácido ortofosfórico y una combinación de ambas técnicas. Las superficies de dentina obtenidas de 32 molares se dividieron en cuatro grupos y se irradiaron con diferentes energías de pulso (no laser –grupo control-, 0.03, 0.045 y 0.07 mJ) para conseguir un patrón de surcos paralelos. Posteriormente, a la mitad de las muestras se les aplicó ácido ortofosfórico y a la otra mitad no. Las superficies de las muestras fueron observadas con microscopía electrónica de barrido y, tras aplicar el adhesivo, se sometieron al test de microtensión. Los fallos más representativos de las muestras fueron observados tras el ensayo mecánico. Aunque el microestructurado con láser de pulso ultracorto mejora la adhesión cuando lo comparamos con las muestras de dentina sin tratar, éste no proporcionó mejores resultados que los obtenidos tras la aplicación del ácido ortofosfórico,

independientemente de que se aplicara ácido ortofosfórico tras la irradiación láser o no. Además, se demostró que la energía de pulso no es un factor clave para mejorar los valores de adhesión cuando se utilizan energías capaces de producir la ablación de la dentina pero no demasiado altas para que puedan inducir daño en el tejido tratado.



**Assessment of the effect of ultrashort pulsed laser
microstructuring and acid etching on microtensile bond
strength of a total-etching adhesive to dentin**

Journal:	<i>Journal of Biomedical Materials Research: Part B - Applied Biomaterials</i>
Manuscript ID:	JBMR-B-13-0683
Wiley - Manuscript type:	Original Research Report
Date Submitted by the Author:	29-Nov-2013
Complete List of Authors:	PORTILLO, MARÍA; UNIVERSIDAD DE SALAMANCA, CIRUGIA Lorenzo, M ^a Cruz Moreno-Pedráz, Pablo; Salamanca University, Optics and Laser GARCIA, ANA; SALAMANCA UNIVERSITY, OPTICS AN LASER MONTERO, JAVIER; UNIVERSIDAD DE SALAMANCA, CIRUGIA Santos-del Riego, Sergio ALBALADEJO, ALBERTO; UNIVERSIDAD DE SALAMANCA, CIRUGIA
Keywords:	laser, adhesion, dentin, ultrashort, bond strength

SCHOLARONE™
Manuscripts

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Title: Assessment of the effect of ultrashort pulsed laser microstructuring and acid etching on microtensile bond strength of a total-etching adhesive to dentin

Portillo M.¹, Lorenzo M.C.¹, Moreno P.², A. García A.², Montero J.³, Santos-del Riego S.E.⁴, Albaladejo A.³

1. Dental School (Faculty of Medicine), University of Salamanca. Paseo Universidad de Coimbra s/n, 37007, Salamanca, Spain.
2. Grupo de Microprocesado de Materiales con Láser, University of Salamanca, Plaza de la Merced s/n, 37008 Salamanca, Spain.
3. Tenured Lecturer, Dental School (Faculty of Medicine), University of Salamanca. Paseo Universidad de Coimbra s/n, 37007, Salamanca, Spain.
4. Tenured Lecturer, Department of Medicine, University of A Coruña. Edificio Universitario de la Facultad de Ciencias de la Salud, Oza S/N. 15005. A Coruña, Spain.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Corresponding author: María Portillo Muñoz. Dental School. Department of Surgery. Faculty of Medicine. Prolongación del paseo de la Universidad de Coimbra S/N. C.P.37007. Salamanca. Spain. Phone: 923294400. Email:maryzar03@gmail.com.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the microtensile bond strengths (MTBS) of a two-step total-etching adhesive system to dentin after conditioning the dental tissue with ultrashort laser pulses, phosphoric acid etching and a combination of both techniques. Flat dentin surfaces were divided into four groups and irradiated with different pulse energies (no laser, 0.03, 0.045 and 0.07 mJ) in order to generate a parallel grooves pattern. Afterwards, half of them followed a conventional acid etching procedure whereas the other half did not. The surface of beams longitudinally cut from the samples were observed step by step by means of scanning electron microscopy (SEM) and once the adhesive was applied, underwent MTBS tests. Failure modes of representative debonded beams were SEM-assessed after mechanical tests. Although ultrashort laser microstructuring improves the adhesion properties as compared to raw dentin surfaces, it fails to provide better results than acid etching regardless of the laser treatment was followed by a further process of acid etching or not. Additionally, it was demonstrated that pulse energy is not a key factor to improve adhesion for values high enough to ablate dentin but not too high to induce severe damage on the tissue.

Keywords: adhesion; bond strength; dentin; femtosecond; laser; ultrashort

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1. INTRODUCTION

The application of acid etching to dentin and the hybrid layer concept proposed in 1982 by Nakabayashi triggered the development of numerous restorative materials, as well as investigations of their effects on the dentinal substrate, in order to improve the various parameters involved in adhesion. Since smear layer is formed during cavity preparation, its removal has been considered important for obtaining good adhesion to dentin (1).

Total-etching adhesive systems can be either three- or two-step depending on whether primer and bonding are separated or combined in a single bottle. One of the greatest achievements of manufacturers in the development of new adhesive materials has been simplifying the application procedure. The first step was to reduce the conventional three-step total-etching adhesives to two-step adhesives combining the primer and the adhesive resin into one single solution. The main reason for the commercial success of these simplified adhesives was the easy handling of these products and the shorter application procedures (2).

Acid etching has been shown to be an efficient strategy for smear layer removal, thus exposing open dentinal tubules and a thin superficial layer of demineralized intertubular dentin (3). However, a disadvantage attributed to dentinal etching is the demineralization of tooth structures, making them more permeable and prone to acid attacks, especially if the demineralized substrates are not completely filled by adhesive resins (4). These incompletely infiltrated zones along the hybrid layer contain denuded collagen fibrils that are vulnerable to degradation by endogenous metalloproteinases in a similar way to what happens in caries progression and periodontal disease (5).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

In order to overcome the limitations caused by acid etching, new investigations suggest alternative techniques that could produce better effects than acid etching. Among these innovations for dentinal surface treatment, the use of lasers has been widely advocated (6). In the last years, two wavelengths have been developed for use clinically on hard dental tissues. These include the Er:YAG (2.94 μm) and the Er,Cr:YSGG (2.78 μm). These two wavelengths make up the erbium family of lasers. It is these two wavelengths (Er:YAG and Er,Cr:YSGG) that dominate the hard dental tissue laser market.

Early observations of dentin surfaces prepared by erbium lasers demonstrated the similarity to acid-etched tooth structure (7,8). However, some recent studies have shown that phosphoric acid etching after Er:YAG irradiation is necessary for improving adhesion (9-14). These findings are related to the presence of microcracks in the laser treated dentin, which makes the dentin more fragile, and to the presence of a modified layer as a result of the remarkable thermal load induced by laser irradiation (15).

In the 1990s, ultrashort pulsed lasers emerged as a new tool for dental hard tissues ablation with reduced thermal or mechanical damage (16,17). Up to now these laser sources have demonstrated considerable potential for dentistry applications, as a result of the non linear nature of the ablation process that allows extremely precise removal of the dental tissue with minimum thermal and thermomechanical effects (18-25). The referenced studies showed that ultrashort pulsed laser irradiation of the dental tissues modifies the surfaces which become rough in the micro and nanometer scale with no significant traces of melting, deformation, cracking or carbonization, and that the dental tissue constitution and chemical composition is not significantly modified by the laser treatment.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

A previous study of our research group demonstrated that laser microstructuring (with Er:YAG and Ti:Sapphire) of dentin surfaces had either negative or irrelevant influence on the microtensile bond strength (MTBS) of adhesives to dentin, depending on the adhesive system used (26). However, a survey of the effect of the modification of the processing parameters was not carried out. On the other hand, the study lacked a thorough analysis of the contribution to the bonding performance of laser treatment and acid etching steps separately. Up to our knowledge, this remains an unexplored field that needs clarification in order to determine without any doubt if ultrashort pulsed laser treatment could help to improve adhesion properties in the clinical practice and potentially substitute acid etching as conditioning procedure.

Among the processing parameters, pulse energy is by far the most important one since it determines the width and depth of the grooves that constitute the microstructured pattern on the dentin surface, the ablation rate -and therefore the efficiency of the process- and the damage level on the surface surrounding the ablated areas, essential to preserve the integrity and properties of the dental specimen. So far, the aim of the present study was to evaluate the effect of microstructuring dentin with ultrashort pulses laser, with different energies (0.03 mJ, 0.045 mJ, 0.07 mJ), on MTBS of a two-step total-etching adhesive without previous acid etching and to compare these bond strengths values with those obtained after phosphoric acid etching or a combination of both conditioning techniques.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

2. MATERIALS AND METHODS

A total of 32 caries-free human third molars, freshly extracted within a 6-month period and stored in distilled water at 4°C, were selected and subjected to ultrasonic cleaning (Suprasson P5 Booster, Acteon Satelec, Merignac, France). After this, a polishing paste (Detartrine, Septodont, Saint Maur, France) was used to remove the adherent tissues from the tooth surface.

2.1. Sample preparation and experimental groups

The specimens were sectioned transversely at a distance of 4 mm from the occlusal surface using a precision cutting machine (Secotom 10, Struers A/S, Ballerup, Denmark) and grinding diamond disks with abundant water coolant in order to remove the enamel and expose a large surface of dentin. Then, the exposed dentin surfaces of each sample were grounded perpendicular to the long axis of the tooth with sandpaper granulated at 600 grit in a polishing machine (LaboPol 5, Struers A/S, Ballerup, Denmark) under running water to provide the formation of a standardized smear layer.

Dentin surfaces were controlled for absence of enamel and pulp tissue using an Axio M1 (Carl Zeiss, Jena, Germany) optical microscope. We used Epiplan X20 and X50 HD objectives (Carl Zeiss Vision, Aalen, Germany), attached to a 1300 X 1030-pixel digital camera (AxioCam HR, Carl Zeiss Vision, Aalen, Germany).

The roots were removed using a diamond bur and pulp tissue was also removed from its coronal parts. This cavity was filled with Filtek Z 250 composite (3M ESPE, St Paul, MN, USA) and adhesive technique (Clearfil SE Bond, Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan).

Once the samples were prepared, they were randomly divided into four

1
2
3 experimental groups according to the applied laser pulse energy. After laser irradiation,
4
5 each group was again divided into two subgroups, depending on whether the specimens
6
7 were additionally subjected to acid etching or not.
8
9

10 2.2. Ultrashort pulsed laser irradiation

11
12 The laser system consists of a Ti:Sapphire oscillator (Tsunami; Spectra Physics,
13 USA), which provides pulses in the near infrared ($\lambda=795\text{nm}$), duration of approximately
14
15 100 fs and energies of the order of 10 nJ. Since these energies are too low to produce
16
17 the ablation of the materials even in tightly focusing conditions, the pulses need to
18
19 undergo an amplification step in a so called regenerative system, (Spectra Physics,
20 Spitfire) based on the CPA technique (Chirped Pulse Amplification). At the end of the
21
22 process the pulses were 120 fs long with a repetition rate of 1kHz, and a maximum
23
24 pulse energy of 1 mJ. The transversal mode is approximately TEM00 with a 9 mm
25
26 beam diameter (at $1/e^2$).
27
28
29
30
31
32

33
34 The pulse energies needed to remove dentin are more than one order of
35
36 magnitude less than the maximum pulse energy available, so that we used neutral
37
38 density filters for an initial coarse reduction and a half-wave plate and a linear polarizer
39
40 for fine control of the pulse energy. The pulse energy was determined through the
41
42 measurement of the average power of the beam with a thermopile detector (407A,
43
44 Spectra Physics, USA). The laser pulses were focused by means of an achromat doublet
45
46 lens ($f=100\text{ mm}$).
47
48
49

50
51 The specimens were fixed on a computer controlled XYZ motorized stage
52
53 (Micos ES100, Nanotec, Germany). The laser pulses impinged vertically on the dentin
54
55 surfaces. Horizontal movements XY allowed to scan the area to be microstructured. The
56
57 laser beam on the surface was defocused by elevating the samples 1 mm, thus
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

minimizing the depth and smoothing the slope of the of the grooves generated by laser ablation in order to obtain a more uniform pattern across the surface.

Twenty four dentin specimens were irradiated with different laser energies (0.030 mJ, 0.045 mJ, 0.070 mJ) whereas the other eight were not laser processed and constituted the control group. All these pulse energies ensure dentin ablation, the higher the energy the larger the ablation rate. The scanning velocity was 0.5 mm/s and the pitch of the pattern was 0.03 mm, for all groups, based on our previous investigations on dentin ablation. We processed the specimens in a saturated vapor atmosphere to preserve the tissues from drying.

2.3. Acid etching

For each experimental group, half of the specimens were acid-etched by spreading 37% phosphoric acid gel (3M™ ESPE™ Scotchbond™, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) on the dentin surface during 10s. Afterwards, these surfaces were rinsed with air/water spray for 10s and blot excess water using a cotton pellet (Table 1).

2.4. Bonding procedure and sample restoration

A two-step total-etching adhesive (Adper Scotchbond 1 XT, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) were applied to the dentin surfaces of all the specimens according to the manufacturer's instructions (Table 1). After photopolymerization of the adhesive, a resin-based composite crown was constructed with 1.5 mm layers of Filtek Z 250 composite (3M ESPE, St Paul, MN, USA), to reach a height of approximately 4-5 mm. Each layer was photocured for 10s with a LED light-curing unit (Bluephase G2; Ivoclar Vivadent, Liechtenstein). Light intensity output was monitored with a curing radiometer (Bluephase Meter, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) to be at least 1000 mW/cm².

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

2.5. Microtensile bond strength test

After 24-hour water storage at 37°C to allow adequate water absorption and equilibration, the specimens were serially sectioned parallel to the long axis of the tooth to obtain 1mm thick slabs using a low diamond saw under water cooling (Secotom 10, Struers A/S, Ballerup, Denmark). Each slab was sectioned into beams with a cross-sectional area of approximately 1mm² using a low speed diamond saw, following the method described in 1999 by Shono *et al.* (27). The resulting beams were submitted to MTBS evaluation, using a universal testing machine (Autograph AGS-X 10 KN, Shimadzu, Tokyo, Japan) running at a cross-head speed of 0.5 mm/min until fracture.

2.6. Failure mode analysis

Fractured specimens were examined with an optical microscope Axio M1 (Carl Zeiss, Germany) at 40X magnification to determine the failure mode. Failure modes were classified as adhesive (no signs of dentin fracture or remnants of resin on the tooth, failure in adhesion), cohesive (complete fracture of dentin or resin, failure of the tooth substrate or failure of the resin composite) or mixed (samples showing both adhesive and cohesive failures).

2.7. Scanning electron microscope (SEM) analysis

2.7.1. Analysis of surface morphology

Sixteen dentin specimens were selected for surface morphology analysis, so that four specimens per group were obtained (control, 0.030 mJ, 0.045 mJ, 0.070 mJ). For each experimental group, two specimens were acid-etched for 10 s by spreading 37% phosphoric acid gel (3M ESPE) after the laser irradiation. Specific regions across the surface were explored to obtain a paramount view of the effect of different energy laser

1
2
3 processing and the acid etching (Zeiss EVO MA25; Carl Zeiss, Germany). The
4 specimens were dehydrated for 48 h in a desiccator (Sample Dry Keeper Simulate
5 Corp., Japan) and then mounted on aluminum stubs with carbon cement. They were
6 sputter-coated with pure gold by means of a sputter-coating Unit E500 (Polaron
7 Equipment Ltd., Watford, England).
8
9

10 11 12 13 14 15 **2.7.2. Failure mode analysis**

16
17 Representative fractured specimens from each subgroup were observed with the
18 same scanning electron microscope in order to examine the morphology of the
19 debonded interface.
20
21
22

23 24 25 **2.8. Statistical analysis**

26
27 The bond strength values were measured in MPa. The data were analyzed with
28 SPSS v16 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL), using a p-value
29 below 0.05 as a threshold for the statistical significance. Student T tests and ANOVA
30 test were applied for comparing the mean MTBS among two or more subgroups
31 respectively, i.e. regarding the use of acid etching or the laser pulse energy used
32 respectively. When ANOVA test detected significant differences, Bonferroni Post Hoc
33 comparisons were performed to match up the subgroups. The Chi-square test was used
34 to detect differences in the type of failure among subgroups. Then, a step-wise multiple
35 linear regression analysis was performed using MTBS as the dependent variable, and
36 introducing the laser pulse energy as a quantitative predictor and the acid etching as a
37 dichotomous one.
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54

55 **3. RESULTS**

56 57 58 **3.1. Microtensile bond strength test**

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Mean values and standard deviations of MTBS for the different groups are presented in Table 2.

The results of the ANOVA analysis showed that, when no acid etching was applied, the laser-treated groups showed a significant increase in MTBS values as compared to the control group regardless the pulse energy applied and no significant differences were observed between the different laser groups ($F=25.03$; $p<0.001$) and, when acid etching was applied, the control group showed higher MTBS values than the laser-treated groups for any of the pulse energies used, and no significant differences were observed between the different laser groups ($F=6.84$; $p<0.001$).

In a bivariate analysis (Student T Test), we found that the application of acid increases significantly the MTBS. This increment is remarkably larger within the control group ($T=-12.02$; $p<0.001$) than for the laser processed groups.

In a significant Regression model ($F=113.6$; $p<0.001$) with a moderate predictive capacity ($R^2=0.23$) it was found that only the acid etching is a significant predictive variable that improves the adhesion in 5.1-7.4 MPa. The increase of the pulse energy does improve the adhesion as well but the increment is not statistically significant (95% CI= from -12.6 to 36.6 MPa).

3.2. Failure mode analysis

With regard to failure, mixed mode is the predominant one independently of the pulse energy and the use of an additional acid etching step. However, in the control group, when no acid was used, all failures were adhesive but when applying acid the predominant failure mode changed to mixed one. Cohesive failures were never observed (Table 3).

3.3. Surface morphology analysis

Figure 1 shows some representative SEM images of the morphological features

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

of the specimens under investigation.

The original surface of dentin after polishing is shown in Fig. 1a. The typical surface is flat and the smear layer can be observed. The orifices of the underlying tubules were completely obstructed by grinding debris. After acid etching this surface, the dentin becomes smoother and the dentinal tubules appear on the surface as a consequence of the partial dissolution of peritubular dentin and removal of the smear plugs (Fig. 1b).

After laser irradiation of dentin, the surfaces exhibit a wavy profile where most of the dentinal tubules are exposed, independent of the pulse energy used (Fig. 1c, 1e, 1g). As it was expected, higher energies are associated with deeper grooves.

When acid etching is applied to this laser processed dentin, the surface remains undulated, more dentinal tubules are exposed and all exhibit larger diameters (Fig. 1d, 1f, 1h).

4. DISCUSSION

For proper bonding of resin composites to dentin when using a total-etching adhesive, this tissue should be etched with acids to remove the smear layer created during mechanical treatment, promotes dentine desmineralization and exposes a network of collagen fibrils that is nearly totally depleted of hidroxiapatite (28,29). In the bonding step, the adhesive resin penetrates into the interfibrilar spaces of the collagen network and into the dentinal tubules, resulting in the formation of a hybrid layer, which is the basis of adhesion and the main mechanism for proper bonding effectiveness and, in combination with the presence of resin tags inside dentinal tubules, provide micromechanical retention to the composite restoration (1,30).

In this study, the values of MTBS of resin composites to the irradiated dentin

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

was significantly lower than the obtained for acid-etched dentin, regardless of the pulse energy used. This result agrees with a previous investigation that showed that the use of an ultrashort pulsed laser for conditioning dentin did not improve the dentin-resin adhesion interface when a two-step total-etching adhesive was used (26). Despite the micro-retentive pattern and that most of the dentinal tubules are exposed (Fig. 1c, 1e, 1g), the laser irradiation might compromise the bonding effectiveness of adhesives to dentin. Moreover, a later application of acid to the previously irradiated dentin surfaces, although gives rise to an improvement of the adhesion, is never able to match the adhesion performance of the exclusively acid etched dentin surfaces.

Laser scanning of the dentin surfaces with suitable fluences (energy per unit of area) produces ablation of both the hydroxyapatite and collagen fibrils what prevents the formation of a proper hybrid layer needed to produce optimal adhesion of the resin. Therefore, adhesion is almost exclusively achieved by the deposition of the adhesive on the laser processed dentin surface whether in acid etched surfaces the adhesion results from the adhesive infiltration into the demineralized collagen matrix. This is enough to explain the lower values of MTBS found for the exclusively laser processed surfaces. In addition, the pattern of grooves gives rise to an irregular distribution of the adhesive which fills the valleys and covers the peaks with a thinner layer, which results in a heterogeneous distribution of the adhesive and thus, a non uniform stress distribution at the adhesive interface (13,31).

Although pulse energy is the more relevant laser processing parameter, its influence has been demonstrated to be irrelevant. We have used in our study three values of pulse energy that, on one hand, are enough to induce ablation of the dentin surface, and on the other hand, are not high enough to remove excessive amount of dentin and to generate remarkable thermal collateral effects on the dental tissue.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

One could expect that later acid etching of the laser processed surfaces might improve the adhesion performance, since the phosphoric acid should dissolve the hydroxyapatite and expose more dentinal tubules enabling the formation of resin tags. This is exactly what happens, there are more dentinal tubules open after acid etching and they grow in diameter (Fig. 1d, 1f, 1h) as compared to the non acid etched surfaces (Fig. 1c, 1e and 1g). A significantly increase in MTBS was consequently observed, although it never reached the values obtained for the control group specimens.

To explain why ultrashort laser processing followed by acid etching is not even able to match the adhesion performance of just acid etched dentin surfaces the absence of the hybrid layer must be revisited. Laser ablation leaves a surface constituted of hydroxyapatite and collagen fibrils that have experienced a thermal load process during irradiation. Although this thermal load is considerably lower as compared to other laser sources, it is not negligible. In fact, the extension of the heat affected zone is of the order of a few microns when moderate fluences are used as it is our case (32). In this zone, the temperature reach locally and during a very short time, values that can denature the collagen fibrils and compromise the interfibrillar space necessary for adhesion (33). Thus, although acid etching removes selectively hydroxyapatite, the hybrid layer formed fails to be homogeneous since the collagen fibers were damaged in a remarkable and inhomogeneously distributed portion of the surface. Therefore, the efficiency of adhesion of the resin to dentin is not as good as it was for exclusively acid etched surfaces even though the number and diameter of tubules is comparable. It was demonstrated in previous works that the number and extension of the resin tags within the outer layer of dentin is a secondary issue for adhesion efficiency as compared to the generation of an homogenous hybrid layer (34).

Concerning the observations of failure mode, all the specimens of the control

1
2
3 group exhibited adhesive failure as long as they did not undergo the acid etching
4
5 procedure. The smear layer and smear plugs in the surface obstruct the dentinal tubules
6
7 what prevents the adhesive penetration into the dentin structure. As it was expected, the
8
9 failure mode of the samples belonging to the control group but submitted to acid etching
10
11 changes to mixed (some areas of the whole surface showing traces of adhesive fracture,
12
13 interlaced with some other areas where cohesive fracture takes place), since the
14
15 adhesive is then able to find some paths and penetrates the collagen network exposed by
16
17 the acid-etching procedure.
18
19

20
21 However, the assessment of the failure mode for the laser processed specimens
22
23 does not provide really useful information. It is obvious from Table 3 that the
24
25 predominant failure mode is mixed. As a matter of fact, we could not find any relevant
26
27 statistical difference among the subgroups, i.e. the failure mode does not depend either
28
29 on the pulse energy or the application of a further acid etching step. The predominance
30
31 of this failure mode is reasonable as far as the SEM observation has revealed that the
32
33 laser processed dentin surfaces are undulated and plenty of open dentinal tubules
34
35 regardless they were afterwards etched or not. The presence of these irregularities on the
36
37 surface produce an uneven distribution of stress resulting in a predominance of mixed
38
39 failure modes.
40
41

42 43 5. CONCLUSION 44

45
46 Ultrashort laser microstructuring of dentin surfaces is not able to improve the
47
48 bond strength of the tested two-step total-etching adhesive system as compared to the
49
50 traditional acid-etching technique. In fact, it was found that further acid application on
51
52 the laser processed surfaces improves the adhesion performance which, however, is still
53
54 worse than the performance of exclusively acid etched surfaces. The damage of
55
56 collagen fibrils as a result of thermal load during laser ablation which prevents the
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

formation of a proper hybrid layer is on the basis of this behaviour.

The role of the laser pulse energy in the adhesion performance was investigated as well. It was demonstrated that for conditions of moderate dentin ablation, pulse energy is an irrelevant parameter for what concerns to adhesion strength.

Up to date, ultrashort pulsed laser conditioning of dentin remains just a potential alternative to acid etching.

Acknowledgments A.G. and P.M. acknowledge the financial support from the Ministerio de Economía y Competitividad (projects Consolider SAUUL CSD2007-00013 and FIS2009-09522) and Junta de Castilla y León (project SA086A12-2). We are grateful to the Centro de Láseres Pulsados (CLPU, Spain) for allowing free SEM observation of the specimens, and José Antonio Pérez-Hernández (CLPU), for providing good quality SEM images.

REFERENCES:

1. Nakabayashi N, Nakajima K, Masuhara E. The promotion of adhesive by resin infiltration of monomers into tooth structure. *J Biomed Mater Res* 1982;16:265–273.
2. Wilder Jr AD, Swift Jr EJ, May Jr KN, Waddell SL. Bond strengths of conventional and simplified bonding systems. *Am J Dent* 1998;11(3):114–117.
3. Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res* 1996;75(9):1706-1715.
4. Chimello-Sousa DT, de Souza AE, Chinelatti MA, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Milori Corona SA. Influence of Er:YAG laser irradiation distance on the bond strength of a restorative system to enamel. *J Dent* 2006;34:245–251.
5. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res* 2002;81(9):603-607.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

6. Ferreira LS, Apel C, Francci C, Simoes A, Eduardo CP, Gutknecht N. Influence of etching time on bond strength in dentin irradiated with erbium lasers. *Lasers Med Sci* 2010;25:849–854.
7. Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh JT Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser- prepared dentin. *J Dent Res* 1996;75:599–605.
8. Lin S, Caputo AA, Eversole LR, Rizioi I. Topographical characteristics and shear bond strength of tooth surfaces cut with a laser-powered hydrokinetic system. *J Prosthet Dent* 1999;82:451–455.
9. Gutknecht N, Apel C, Schäfer C, Lampert F. Microleakage of composite fillings in Er,Cr:YSGG laser-prepared class II cavities. *Lasers Surg Med* 2001;28(4):371-374.
10. Ceballos L, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Marshall GW. Bonding to Er:YAG laser treated dentin. *J Dent Res* 2002;81:119–122.
11. Bertrand MF, Hessleyer D, Muller-Bolla M, Nammour S, Rocca JP. Scanning electron microscopic evaluation of resin- dentin interface after Er:YAG laser preparation. *Lasers Surg Med* 2004;35:51–57.
12. Bertrand MF, Semez G, Leforestier E, Muller-Bolla M, Nammour S, Rocca JP. Er:YAG laser cavity preparation and composite resin bonding with a single-component adhesive system: relationship between shear bond strength and microleakage. *Lasers Surg Med* 2006;38:615–623.
13. Lee BS, Lin PY, Chen MH, Hsieh TT, Lin CP, Lai JY, Lan WH. Tensile bond strength of Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin and analysis of dentin-resin interface. *Dent Mater* 2007;23:570–578.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

14. Carvalho RCR, Freitas PM, Otsuki M, Eduardo CP, Tagami J. Micro-shear bond strength of Er:YAG-laser-treated dentin. *Lasers Med Sci* 2011;23:117–124.
15. Bahrami B, Askari N, Tielemans M, Heyselaer D, Lamard L, Peremans A, Nyssen-Behets C, Nammour S. Effect of low fluency dentin conditioning on tensile bond strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin: a preliminary study. *Lasers Med Sci* 2011;26(2):187-191.
16. Neev J, Da Silva LB, Feit MD, Perry MD, Rubenchik AM, Stuart BC. Ultrashort pulse lasers for hard tissue ablation. *IEEE J Sel Top Quant Electron* 1996;2(4):790–800.
17. Kohns P, Zhou P, Störmann R. Effective laser ablation of enamel and dentine without thermal side effects. *J Laser Appl* 1997;9(3):171-4.
18. Alves S, Oliveira V, Vilar R. Femtosecond laser ablation of dentin. *J Phys D: Appl Phys* 2012;45:245401. doi:10.1088/0022-3727/45/24/245401.
19. Ji L, Li L, Devlin H, Liu Z, Jiao J, Whitehead D. Ti:sapphire femtosecond laser ablation of dental enamel, dentine, and cementum. *Lasers Med Sci* 2012;27(1):197-204.
20. Portillo Muñoz M, Lorenzo Luengo MC, Sánchez Llorente JM, Peix Sánchez M, Albaladejo A, García A, Moreno Pedraz P. Morphological alterations in dentine after mechanical treatment and ultrashort pulse laser irradiation. *Lasers Med Sci* 2012;27(1):53-58.
21. Lorenzo MC, Portillo M, Albaladejo A, García A, Vázquez J, Moreno P. Effect of ultrashort laser microstructuring of enamel and dentin surfaces on bond strengths in orthodontics and conservative dentistry. *Photon Lasers Med* 2012;1(3):171–182.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

22. Lorenzo MC, Portillo M, Moreno P, Montero J, Castillo-Oyagüe R, García A, Albaladejo A. In vitro analysis of femtosecond laser as an alternative to acid etching for achieving suitable bond strength of brackets to human enamel. *Lasers Med Sci* 2013;[Epub ahead of print].

23. Luengo MC, Portillo M, Sánchez JM, Peix M, Moreno P, García A, Montero J, Albaladejo A. Evaluation of micromorphological changes in tooth enamel after mechanical and ultrafast laser preparation of surface cavities. *Lasers Med Sci* 2013;28(1):267-273.

24. Rego Filho Fde A, Dutra-Corrêa M, Nicolodelli G, Bagnato VS, de Araujo MT. Influence of the hydration state on the ultrashort laser ablation of dental hard tissues. *Lasers Med Sci* 2013;28(1):215-222.

25. Schelle F, Polz S, Haloui H, Braun A, Dehn C, Frentzen M, Meister J. Ultrashort pulsed laser (USPL) application in dentistry: basic investigations of ablation rates and thresholds on oral hard tissue and restorative materials. *Lasers Med Sci* 2013;[Epub ahead of print].

26. Portillo M, Lorenzo MC, Moreno P, García A, Montero J, Ceballos L, Fuentes MV, Albaladejo A. Influence of Er:YAG and Ti:sapphire laser irradiation on the microtensile bond strength of several adhesives to dentin. *Lasers Med Sci* 2013;[Epub ahead of print].

27. Shono Y, Ogawa T, Terashita M, Carvalho RM, Pashley EL, Pashley DH. Regional measurement of resin-dentin bonding as an array. *J Dent Res* 1999;78:699-705.

28. Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J*

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Dent Res 1992;71(8):1530-1540.

29. Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Braem M, Yildiz E, Yücel T, Vanherle G. The interaction of adhesive systems with human dentin. Am J Dent 1996;9(4):167-173.

30. Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. J Dent Res 1993;72(2):495-501.

31. Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RC, Van Meerbeek B. Influence of dentin cavity surface finishing on micro-tensile bond strength of adhesives. Dent Mater 2008; 24(4):492-501.

32. Le Harzic R, Huot N, Audouard E, Jonin C, Laporte P, Valette S, Fraczkiewicz A, Fortunier R. Comparison of heat-affected zones due to nanosecond and femtosecond laser pulses using transmission electronic microscopy. Appl Phys Lett 2002; 80:3886-3888.

33. Braun A, Krillke RF, Frentzen M, Bourauel C, Stark H, Schelle F. Heat generation caused by ablation of dental hard tissues with an ultrashort pulse laser (USPL) system. Lasers Med Sci 2013; [Epub ahead of print].

34. Pashley DH. Interactions of dental materials with dentin. Trans Acad Dent Mat 1990; 3:55-73.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure legend

Fig. 1 SEM micrographs of the dentin surface: control group (**a, b**) and laser processed groups: 0.030 mJ (**c, d**), 0.045 mJ (**e, f**), 0.070 mJ (**g, h**). On the right side, the specimens underwent an acid etching process after laser treatment whereas the left column shows images of laser processed surfaces without acid application.

For Peer Review

Table 1. Manufacturers, Compositions and Mode of application of tested adhesives.

Materials	Manufacturers	Compositions	Mode/steps of application
Scotchbond 37% phosphoric acid	3M ESPE, St Paul, MN, USA	37 % phosphoric acid	Etch enamel for 30 s and dentine for 10s, rinse with air/water spray for 10s and blot excess water using a cotton pellet.
Adper Scotchbond 1 XT	3M ESPE, St Paul, MN, USA	Bis-GMA, HEMA, Dimethacrylates , Ethanol, water, photoinitiator, 5nm spherical silica particles Methacrylate copolymer of polyacrylic and polyitaconic acid	Apply 2–3 consecutive coats of adhesive to etched enamel and dentine for 15s with gentle agitation using a fully saturated applicator. Gently air thin for 5s to evaporate solvents. Light cure for 10s.
Composite Z 250	3M ESPE, St Paul, MN, USA	Inorganic filler (Zirconium/silica) loading is 60% by volume with a particle size range of 0.01 to 3.5 microns. BIS-GMA, UDMA and BIS- EMA. Encore-GMA, UDMA, Encore-EMU, Zirconium/Silicon 60% (0.01 to 3.5 micrometers)	

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Table 2. Descriptive statistics of microtensile bond strength (MPa) of the specimens tested. Anova in rows and Student T tests in columns.

	Control M (SD)	0.030 mJ M (SD)	0.045 mJ M (SD)	0.070 mJ M (SD)	
Acid	23.0 (5.8) Aa	18.7 (5.0) Ab	18.8 (4.8) Ab	19.6 (5.8) Ab	$F=6.84$; $p<0.001$
No Acid	2.7 (4.5) Ba	14.4 (4.3) Bb	14.6 (6.5) Bb	14.7 (4.1) Bb	$F=25.03$; $p<0.001$
	$T=-12.02$; $p<0.001$	$T=-4.53$; $p<0.001$	$T=-3.71$; $p<0.001$	$T=-5.33$; $p<0.001$	

Mean values followed by the same lowercase letter in rows and the same uppercase letter in columns were not significantly different.

M mean, *SD* standard deviation

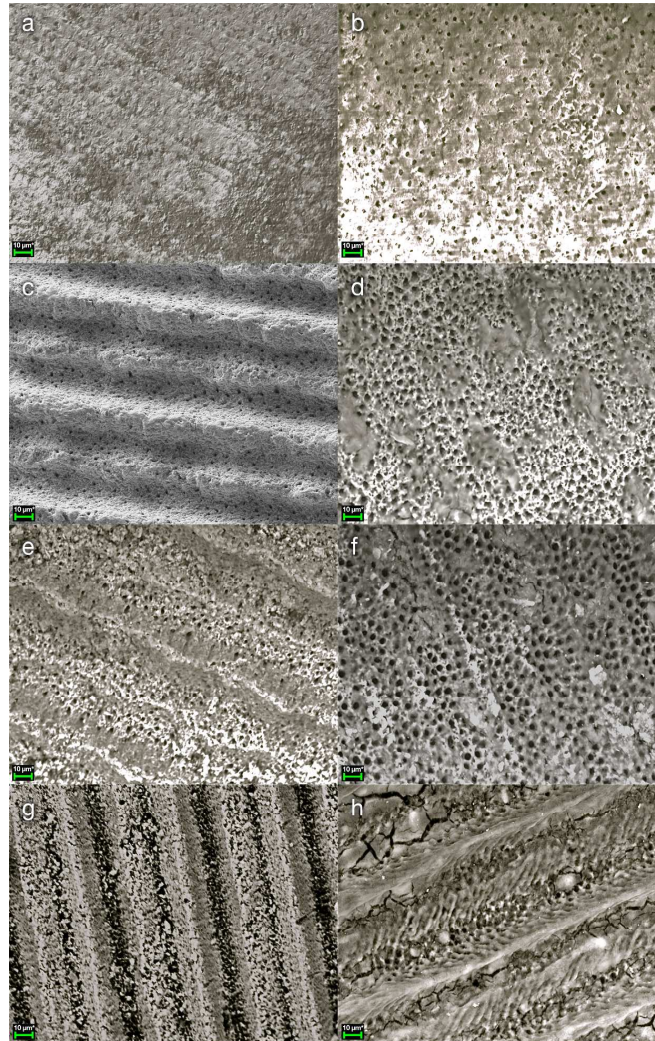
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Table 3. Failure modes within subgroups.

	Control, n (%)		0.030 mJ, n (%)		0.045 mJ, n (%)		0.070 mJ, n (%)	
	No Acid	Acid	No Acid	Acid	No Acid	Acid	No Acid	Acid
Adhesive	14(100.0)	8(18.2)	13(27.7)	13(24.5)	12(25.5)	20(37.0)	10(14.7)	9(16.1)
Mixed	0(0.0)	36(81.8)	34(72.3)	40(75.5)	35(74.5)	34(63.0)	58(85.3)	47(83.9)
	Chi: 30.20; p<0.001		Chi: 0.13; p=0.72		Chi: 1.54; p=0.22		Chi: 0.04; p=0.83	

For Peer Review

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



209x314mm (300 x 300 DPI)

John Wiley & Sons, Inc.





CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

Actualmente, uno de los procedimientos que se realizan en Odontología con mayor frecuencia es la realización de cavidades y su posterior relleno con resinas compuestas. Para ello, el instrumental rotatorio se lleva empleando desde los inicios de la operatoria dental. Uno de los principales inconvenientes de esta técnica son los efectos térmicos y mecánicos indeseables que se producen sobre los tejidos dentales y que dan lugar a alteraciones en la estructura de dichos tejidos así como molestias al paciente, lo que hace necesaria la utilización de anestesia local durante el procedimiento (Cavalcanti y cols., 2003; Correa-Alfonso y Palma-Dibb, 2007). Para prevenir los efectos térmicos y preservar la pulpa en buenas condiciones se utiliza irrigación conjunta, la cual suele reducir la visibilidad del campo operatorio (Cavalcanti y cols., 2002). Además, el tamaño y la forma de las fresas no permite realizar un tratamiento mínimamente invasivo (Eberhard y cols., 2008). Estos problemas han originado la necesidad de buscar procedimientos alternativos que ayuden a minimizar o anular dichos efectos, que pueden comprometer la vitalidad del tejido pulpar y la eficacia adhesiva de las resinas a largo plazo.

El láser se presenta como una alternativa a la técnica mecánica convencional, siendo el más empleado y estudiado el de Er:YAG. Aunque estos láseres presentan numerosas ventajas, como son la realización de cavidades más pequeñas (Eberhard y cols., 2008), la ausencia de barrillo dentinario y la presencia de los túbulos dentinarios abiertos tras la irradiación (Matsumoto y cols., 2003; Harashima y cols., 2005; Iaria, 2008; Colucci y cols., 2012), siguen produciendo un aumento de la temperatura en los tejidos tratados a pesar de la utilización conjunta del spray de aire/agua (Cavalcanti y cols., 2003). Esto hace que se observen en el tejido signos de afectación térmica (carbonización, fusión y fisuras) que pueden comprometer el proceso adhesivo y la unión dentina-resina a largo plazo (Dostalova y cols., 1996; Attrill y cols., 2004). Todo ello hizo necesario seguir investigando otros tipos de láser, entre los cuales, el de Ti:Zafiro se presenta como el más idóneo ya que los pulsos tan cortos e intensos que proporciona esta fuente de radiación permiten la ablación de la superficie con extremada precisión y reproducibilidad (Ji y cols., 2012; Sun y cols., 2012). El mecanismo de ablación ultrarrápida por el que estos láseres eliminan material de la superficie de cualquier material produce un daño colateral en la superficie incomparablemente menor que con

cualquier otro procedimiento térmico, químico o mecánico (Kim y cols., 2001; Sun y cols., 2012); esto hace que este láser sea el sustituto ideal del instrumental rotatorio (Krüger y cols., 1999; Schelle y cols., 2013).

Si bien es cierto que las ventajas que proporciona el láser de Ti:Zafiro son fundamentales a la hora de evitar daños en el tejido remanente, también es de gran importancia obtener una buena eficacia adhesiva de la resina compuesta a dicha superficie, pues de ello dependerá el éxito clínico de la restauración. Existen diferentes tipos de adhesivos dentinarios, y éstos utilizan distintos mecanismos para obtener una unión fuerte y duradera entre el material de restauración y la dentina. Los mecanismos de unión son muy sensibles a la técnica utilizada ya que la dentina, debido a sus características morfológicas, es un tejido poco favorable para conseguir esta unión. La dentina irradiada con el láser de Ti:Zafiro no muestra signos de daño térmico y su superficie se muestra rugosa, libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos (Niemz, 1998; Alves y cols., 2012). A pesar de la gran similitud de esta superficie con la de la dentina tras la aplicación del ácido ortofosfórico, creemos que existen diferencias sustanciales en relación a la presencia de fibras de colágeno y de hidroxiapatita en la dentina remanente. Por todo ello, nos planteamos investigar si dicha superficie permitiría igualar o aumentar la fuerza de adhesión con distintos sistemas adhesivos y si, debido a que tras la irradiación y tras el grabado ácido obteníamos una superficie semejante, éste podría reemplazar el paso de grabado ácido en un adhesivo de grabado total y evitar así los inconvenientes del mismo.

Por lo tanto, debido a las numerosas ventajas que se derivan del empleo del láser de Ti:Zafiro para producir la ablación de diferentes materiales (Srinivasan y cols., 1987; Kuper y Stuke, 1987; Chichkov y cols., 1996; Nolte y cols., 1997; Shirk y Molian, 1998), en esta tesis nos planteamos conocer si esas mismas ventajas se observarían también al procesar la dentina. Para ello, en el primer artículo publicado, se realizó una comparación cualitativa entre la preparación cavitaria con técnica mecánica convencional y con pulsos láser de 120 fs a 795 nm. Se utilizaron terceros molares totalmente incluidos con el fin de minimizar, e incluso anular, los efectos que produce cualquier fisura que pueda aparecer en un molar erupcionado como

consecuencia de la masticación y así, asegurar que los dientes estuvieran intactos.

Para la realización de las cavidades se probaron distintas variables de procesado teniendo en cuenta que la selección cuidadosa de los parámetros es crucial para lograr estructuras precisas y de alta calidad en la superficie de la dentina.

Los parámetros utilizados en este estudio fueron: energía por pulso (0.05, 0.03, 0.01 y 0.007 mJ), separación entre surcos (0.02 y 0.01 mm) y velocidad de escaneado (0.1 y 0.05 mm/s); y se realizaron cavidades cuadradas de aproximadamente 200 μm de lado.

La energía por pulso determina la tasa de material eliminado, pero energías muy altas fuertemente focalizadas en la superficie podrían generar algún daño debido a que los mecanismos de explosión de fase comienzan a entrar en juego. Por otra parte, la separación entre surcos determina la cantidad de barridos que hace el láser sobre la superficie; a mayor separación entre surcos, menor número de barridos y, por lo tanto, menor tasa de ablación. Por último, la velocidad de escaneado determina el número de pulsos que contribuyen a la ablación en una región determinada. Los parámetros descritos influyen decisivamente en la profundidad de la cavidad. La morfología y dimensiones de las cavidades están determinadas por las características de movimiento de las muestras y la propia energía de los pulsos. La modificación de estos parámetros nos permitió determinar cuáles proporcionaban una ablación de la totalidad de la dentina superficial y así evitar que quedaran zonas de dentina intacta.

La evaluación de los resultados obtenidos con los parámetros investigados nos permitió elegir la combinación adecuada entre la energía de pulso, la separación de los surcos y la velocidad de escaneado, parámetros que posteriormente utilizaríamos en los estudios de adhesión con el fin de obtener una ablación moderada de la dentina, en la que no aparecieran zonas de dentina intacta, y en el menor tiempo de trabajo.

De los resultados obtenidos en este **primer estudio** cabe destacar que en el análisis

morfológico con MEB de las muestras procesadas se observó que el láser de Ti:Zafiro permitía realizar cavidades de gran precisión en la dentina y no se observaban signos de daño térmico y mecánico (fisuras) en la superficie (**Figuras 1.1-4**), al contrario de lo que ocurría con el tratamiento mecánico convencional (**Figura 1.5**). Nuestros resultados concuerdan con lo descrito previamente en la literatura, donde se afirma que la aplicación de pulsos ultracortos en dentina previene casi por completo el daño térmico y mecánico en el tejido (Kohns y cols., 1997; Niemz, 1998; Kruger y cols., 1999; Niemz y cols., 2004; Pike y cols., 2007; Ji y cols., 2012; Sun y cols., 2012; Alves y cols., 2012). Además, la casi total ausencia de estos fenómenos térmicos eliminaría la necesidad de anestesia local durante el procedimiento (Rode y cols., 2002).

Por otra parte, la superficie irradiada tenía un aspecto rugoso e irregular con ausencia de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos. Este resultado coincide con lo descrito en diferentes artículos por otros autores (Kohns y cols., 1997; Kruger y cols., 1999; Pike y cols., 2007; Alves y cols., 2012). Por el contrario, también se ha observado que al intentar aumentar la tasa de ablación de la dentina, (con mayor energía por pulso y menor velocidad de barrido y separación entre surcos) (**Figura 1.4**), estos fenómenos térmicos, aunque no tan evidentes como cuando utilizamos instrumental rotatorio, podrían aparecer, lo que también ha sido reseñado por algunos autores muy recientemente (Braun y cols., 2013; Rego Filho y cols., 2013).

En base a los resultados de este primer estudio, podemos afirmar que la dentina puede ser ablacionada con éxito por el láser de Ti:Zafiro, hecho que coincide con otras investigaciones enfocadas a la ablación con este sistema en el tejido duro dental (Kohns y cols., 1997; Niemz, 1998; Kruger y cols., 1999; Niemz y cols., 2004; Pike y cols., 2007; Ji y cols., 2012; Sun y cols., 2012; Alves y cols., 2012).

Los resultados de este estudio han permitido establecer las ventajas de este láser con respecto a la técnica mecánica convencional y a otros tipos de láseres utilizados por otros autores. En resumen, el láser de pulso ultracorto:

- Produce mínimos cambios estructurales en la dentina irradiada que aparece sin signos de daño térmico y mecánico.
- Ofrece la posibilidad de realizar cavidades mucho menores que las que se pueden hacer con una fresa del diámetro más pequeño (Girard y cols., 2007), pudiendo llegar incluso a cavidades de pocas micras si fuera necesario.
- No se requiere irrigación porque el proceso de ablación ocurre en un periodo de tiempo muy corto en el que no hay posibilidad de transmisión del calor, a diferencia de la instrumentación mecánica y los láseres de Er:YAG, que precisan la utilización conjunta de irrigación para disminuir el posible aumento de temperatura (Ji y cols., 2012).
- Se reduce el estrés del paciente, al no haber ruido ni necesidad de anestesia para realizar la cavidad con el láser de pulso ultracorto.
- Puede ablacionar casi todo tipo de material, incluidas las restauraciones metálicas, que no pueden ser removidas por los láseres de Er:YAG. Esto se debe a que cuando se realiza la ablación con láser de pulso ultracorto, el coeficiente de absorción del material depende principalmente de la intensidad de la radiación y no tan decisivamente de la longitud de onda, como ocurre en el caso de los láseres convencionales.

Nuestros resultados ofrecen una alternativa a la técnica mecánica convencional e intentan centrarse en optimizar la calidad del tratamiento dentario. Por ello, y tras observar las ventajas de los pulsos ultracortos, nuestra atención se dirigió a estudiar las fuerzas de adhesión de los sistemas adhesivos más utilizados en odontología sobre la superficie dentinaria irradiada con el láser de pulso ultracorto y a determinar si existe la necesidad de un tratamiento ácido previo, en los sistemas adhesivos de grabado total, ya que la morfología de la superficie irradiada con este láser se asemeja a la superficie de la dentina tras la aplicación del ácido ortofosfórico. Para cumplir los objetivos planteados, esto es, determinar la eficacia adhesiva dentina-resina

se utilizó el análisis de fuerza de adhesión a la microtensión (MTBS). Tradicionalmente, para el análisis de la fuerza de adhesión de los distintos sistemas adhesivos dentinarios se ha utilizado el test de resistencia al cizallamiento (SBS); éste resulta útil para probar materiales que fallan ante valores comprendidos entre 18-20 MPa. Sin embargo, para valores superiores a dicha cifra, este tipo de test a menudo no permite diferenciar entre la fuerza del adhesivo y la fuerza cohesiva del composite (Chappell y cols., 1994). Estos inconvenientes determinaron la necesidad de obtener un método mejor y más eficaz, surgiendo así el test de resistencia a la microtensión (MTBS), introducido en 1994 por Sano y cols. Este test permite la medición de fuerzas de adhesión usando superficies de un área de 0.5 a 1.5 mm² (Shono et al., 1999). Su principal inconveniente es que requiere una preparación y realización muy laboriosa pero, sin embargo, presenta múltiples ventajas ya que permite (Pashley y cols., 1995; Armstrong y cols., 2010):

- Obtener más fallos adhesivos y menos fallos cohesivos.
- Medir valores de fuerza de adhesión más altos.
- La medición de la fuerza de adhesión en regiones limitadas de la dentina.
- Calcular la media y la varianza para cada diente.
- Testar la adhesión a superficies irregulares.
- Testar superficies muy pequeñas.
- Facilitar la evaluación con MEB de las áreas fracturadas.

Por todas estas razones, decidimos utilizar este test para valorar las fuerzas de adhesión de los distintos sistemas adhesivos a la dentina irradiada con el láser.

Un factor a tener en cuenta cuando utilizamos el MTBS fue cómo tratar los especímenes que fallan antes de ser testados. Debido a su pequeño tamaño y a la fragilidad de los mismos, es fácil que este tipo de fallos pudieran surgir en la investigación. No existe un consenso general sobre el tratamiento de estos fallos *pretest* en el MTBS (Pashley y cols., 1999); mientras que en algunos estudios adjudican a los fallos *pretest* un valor de 0, en otros los excluyen del estudio al considerar que éstos necesitan la aplicación de cierta presión para su

fractura (Nikolaenko y cols., 2004; Goracci y cols., 2006). La inclusión o no de estos datos en el estudio modificará el coeficiente de variación; así, aquellos test que excluyen estos datos tendrán un coeficiente de variación menor que aquellos estudios que los incluyen. Sin embargo, cuando en un estudio existe una alta proporción de fallos pretest, la exclusión de los datos no parece ser aconsejable ya que no ofrece un resultado real de la situación (Matinlinna y Mittal, 2009).

En nuestros estudios, debido a que el número de fallos *pretest* fue insignificante y a que todos ellos se produjeron por un error en la manipulación, decidimos no tenerlos en cuenta en nuestro análisis estadístico.

En el **segundo artículo** publicado, se utilizó el láser de Ti:Zafiro (pulso ultracorto) para comprobar la eficacia adhesiva de distintos sistemas adhesivos a la dentina irradiada con este láser y compararla con la obtenida en el grupo control (superficie no tratada con láser) y con el láser de Er:YAG.

Para su realización se seleccionaron tres sistemas adhesivos que representan a los más utilizados en Odontología: un adhesivo de grabado total en dos pasos (XT); un adhesivo autograbador en dos pasos (CSE) y un adhesivo autograbador en un paso (OAO).

Los parámetros utilizados para el láser de Ti:Zafiro fueron: energía de pulso de 0.045 mJ, velocidad de barrido de 0.5 mm/s y separación entre surcos de 0.03 mm. Los parámetros utilizados con el láser de Er:YAG fueron los que recomendaba el fabricante para la ablación de la dentina (energía de pulso de 300 mJ y duración del pulso de 100 μ s).

Tras la evaluación y comparación de los resultados obtenidos pudimos concluir que tanto el sistema adhesivo como la irradiación láser influyen en las fuerzas de adhesión dentina-resina.

Los resultados obtenidos nos permitieron observar un descenso en los valores de fuerza de adhesión de 7.6 y 4.6 MPa cuando la superficie dentinaria fue irradiada con el láser de Ti:Zafiro

y con el láser de Er:YAG, respectivamente. Cuando se aplicaron los adhesivos de grabado total en dos pasos y de autograbado en dos pasos, las superficies irradiadas con ambos láseres obtuvieron menores valores de adhesión que el grupo control; sin embargo, cuando se utilizó el adhesivo de autograbado en un paso no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (**Tabla 2.2**).

Como ya hemos indicado, ésta es la primera vez que se evalúan las fuerzas de adhesión de distintos sistemas adhesivos a la dentina irradiada con láser de pulso ultracorto. Sólo hemos encontrado una cita bibliográfica donde se evalúa el efecto de dos patrones submicrométricos generados en la superficie de la dentina con láser de pulso ultracorto para mejorar la eficiencia de la interfase resina-dentina con un adhesivo de autograbado en dos pasos (Gerhardt-Szep y cols., 2012). En el estudio se realizó un microestructurado de la superficie con barridos de láser en sentido longitudinal y transversal; la distancia de separación entre las líneas de barrido fue de 80 μm para un grupo y 160 μm para el otro, con áreas de dentina intacta entre ambas. Se concluyó que el tratamiento de la dentina con el láser de pulso ultracorto y el patrón de 160 μm no afectó a la fuerza de adhesión de la resina cuando se comparó con el grupo control; por el contrario, cuando se realizó el patrón de 80 μm se obtuvieron fuerzas de adhesión inferiores. Por razones obvias, este estudio no permite la comparación directa con nuestros resultados ya que utilizaron el láser para crear un mallado de la superficie y así aumentar la retención mecánica de la resina compuesta a la misma, por lo que parte de la dentina permanecía intacta.

Por otra parte, la ablación de la dentina con el láser de pulso ultracorto ha sido estudiada previamente por diferentes autores (Kohns y cols., 1997; Niemz, 1998; Kruger y cols., 1999; Niemz y cols., 2004; Pike y cols., 2007; Ji y cols., 2012; Sun y cols., 2012; Alves y cols., 2012; Braun y cols., 2013; Rego Filho y cols., 2013). En estos estudios se indica que la dentina irradiada tiene un aspecto irregular y rugoso, sin signos de deformación, carbonización y fusión; además, su composición química no se ve alterada por la irradiación con este láser (Alves y cols., 2012). Estos autores observaron que la superficie irradiada con láser de pulso ultracorto parecía ser favorable para los posteriores procesos de adhesión de las resinas

compuestas ya que aparecía libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos, lo que también se puede observar claramente en las imágenes MEB de nuestro estudio (**Figura 2.1**). Sin embargo, nuestros resultados muestran claramente que estas características morfológicas no mejoran los valores de fuerza de adhesión independientemente del tipo de sistema adhesivo utilizado.

Entre los principales factores que podrían explicar coherentemente dicho comportamiento se encuentran:

1) Aunque la rugosidad de la superficie irradiada con este láser es significativamente mayor que la que obtenemos tras el grabado ácido, estas irregularidades pueden ser tan marcadas que impidan una distribución uniforme del *stress* en la interfase dentina-resina y, por lo tanto, disminuya la fuerza de adhesión. Es posible, por tanto, que estas irregularidades impiden la formación de una capa híbrida uniforme que es importante para una correcta adhesión como ya describió Tay y Pashley (2001).

2) A pesar de que Alves y cols. (2012) observaron que la composición química no se ve significativamente alterada por la irradiación con el láser de pulso ultracorto, la ablación de la dentina podría producir la disolución de las fibras de colágeno, impidiendo así la penetración del adhesivo en el espacio interfibrilar y produciendo por lo tanto una disminución en los valores de adhesión, tal como se ha observado en otros estudios donde se aplicó el láser de Er:YAG (Ceballos y cols., 2002; De Carvalho y cols., 2008).

En relación con el láser de Er:YAG, nuestros resultados también fueron inferiores a los obtenidos con el grupo control, salvo para el sistema adhesivo de autograbado en un paso que no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control y al láser de Ti:Zafiro (**Tabla 2.2**).

Se han descrito resultados contradictorios en los estudios de MTBS tras la irradiación de la dentina con láser de Er:YAG; esto se debe, en nuestra opinión, al amplio rango de

parámetros experimentales que pueden ser utilizados y que hacen muy difícil la comparación de los resultados obtenidos. Así, Li y cols. (1992) sugirieron que el láser de Er:YAG produce la ablación de los tejidos duros dentales, induciendo microexplosiones dentro de la estructura inorgánica de los dientes; inicialmente, el láser de Er:YAG vaporiza el agua y otros componentes orgánicos hidratados hasta que la presión interna provoca la explosión del componente inorgánico. Por el contrario, Tachibana y cols. (2008) observaron que la dentina irradiada presentaba los túbulos dentinarios abiertos con prominencia de la dentina peritubular produciendo una superficie escamosa libre de barrillo dentinario, y esto podría contribuir a un aumento de la eficacia de adhesión. Sin embargo, la morfología de la superficie de la dentina no es el único factor relevante en el proceso de adhesión. Según Ceballos y cols. (2002) la dentina irradiada presentó una capa superficial que consistía en una superficie escamosa donde las fibras de colágeno aparecen completamente fundidas y vaporizadas. Esta capa varía en profundidad y apariencia dependiendo de la duración de pulso utilizada. La parte basal contiene restos de fibras de colágeno desnaturalizadas que están fusionadas y adheridas débilmente a la dentina subyacente donde los espacios interfibrilares están reducidos. La presencia de esta capa impide la infiltración del adhesivo, dando lugar a valores de adhesión más bajos (Ceballos y cols., 2002). A pesar de esta controversia, los investigadores han alcanzado un cierto grado de acuerdo en el hecho de aceptar que la irradiación de la dentina con láser de Er:YG afecta negativamente a la eficacia adhesiva resina-dentina (Ceballos y cols., 2002; Kameyama y cols., 2000).

Los resultados de nuestra investigación concuerdan con esta afirmación (**Tabla 2.2**) y con lo observado por otros autores. Así, De Munck y cols. (2002) concluyeron que los adhesivos de grabado total y de autograbado adherían de forma menos efectiva a la superficie dentinaria tratada con láser Er: YAG que a la superficie tratada con instrumental rotatorio. El daño subsuperficial iniciado por la ablación con el láser de Er:YAG probablemente es la razón principal de la disminución de los valores de adhesión y podría comprometer la adhesión a largo plazo. Más recientemente, Brulat y cols. (2009) también obtuvieron valores de adhesión más bajos para la dentina tratada con láser de Er:YAG para los diferentes sistemas adhesivos de autograbado empleados.

En nuestro estudio, al comparar los valores de adhesión obtenidos con los distintos sistemas adhesivos testados, observamos que el adhesivo de autograbado en dos pasos (CSE) produjo los valores de fuerza de adhesión más altos en comparación con los otros dos adhesivos, tanto en el grupo control como en los grupos láser (Er:YAG y Ti:Zafiro). Estos resultados son similares a los obtenidos por otros autores (Van Meerbeek y cols., 2003a; Manhães y cols., 2005; Oliveira y cols., 2005; Brulat y cols., 2009). El CSE es un adhesivo de autograbado ultra-suave (pH=2,7); su baja acidez produce una considerable disminución de la capacidad para disolver el barrillo dentinario y desmineralizar la dentina subyacente (Cardoso y cols., 2011) y sólo puede exponer superficialmente el colágeno de la dentina, creando una característica capa híbrida nanométrica. Sin embargo, la presencia de 10-MDP en su composición permite una unión química eficaz y estable con el contenido mineral de la dentina parcialmente desmineralizada, por lo que se obtienen unos valores de adhesión más altos (Albaladejo y cols., 2010; Cardoso y cols., 2011); además, desempeña un papel importante en la resistencia a la degradación hidrolítica a largo plazo (De Munck y cols., 2002; Tachibana y cols., 2008; Brulat y cols., 2009; Celik y cols., 2010).

Al comparar los resultados obtenidos con los dos adhesivos de autograbado, el OAO mostró valores de adhesión más bajos que el adhesivo de dos pasos (CSE); sin embargo, el adhesivo de grabado total (XT) no mostró diferencias estadísticas con el OAO. Estos resultados coinciden con estudios previos que obtuvieron valores de adhesión más bajos para los autograbadores de un sólo paso que para los de dos pasos (Brulat y cols., 2009; Van Meerbeek y cols., 2003a; Cardoso y cols., 2011). Como los adhesivos *all in one* son más hidrófilos que los de dos pasos, esta hidrofilia podría resultar en una mayor absorción de agua por la resina adhesiva, que actuaría como una membrana semipermeable que permite el transporte de agua y, por lo tanto, afectaría a sus propiedades mecánicas. Estos aspectos podrían contribuir a la hidrólisis de polímeros de resina y la posterior degradación de la unión dentina-resina (Brulat y cols., 2009; Van Meerbeek y cols., 2003a). Además, los adhesivos *all in one* son menos viscosos, lo que dificulta que penetren en la superficie (Cardoso y cols., 2011). Estas propiedades pueden dar lugar a una amplia variedad de problemas que pueden poner

en peligro la eficacia y la estabilidad de la adhesión a la dentina (Cardoso y cols., 2011).

Con respecto al tipo de fallo, se conoce que la interfase dentina-adhesivo-composite consta de una estructura compleja con muchos lugares de fractura posibles (Armstrong y cols., 2001). El patrón final de fractura en esta interfaz está determinado por la distribución del *stress* local durante la prueba, la propagación de grietas, las propiedades de la estructura del material, y la dinámica de la propia fractura. En base a estos hechos, los lugares de fractura resaltan la diferencia en la metodología de los experimentos o la forma de las muestras testadas (Manhães y cols., 2005). En nuestro estudio, el tipo de fallo predominante en las muestras con valores más bajos de adhesión fue el fallo mixto, mientras que los fallos cohesivos se observaron principalmente asociados a mayores fuerzas de adhesión (**Tabla 2.3**).

Se sabe que el acondicionamiento de la dentina con láser de Ti:Zafiro está influenciado por diferentes parámetros: longitud de onda, duración del pulso, energía de pulso, frecuencia de repetición, velocidad de barrido y distancia entre surcos o líneas de barrido. En este estudio, el láser de Ti:Zafiro se aplicó con los siguientes parámetros: 795 nm, 120 fs, 0.045 mJ, 1 kHz, 0.5 mm/s, y 0.03 mm, y los resultados obtenidos con los diferentes sistemas adhesivos no mejoraron los valores de fuerza de adhesión. Ello indica que serán necesarios nuevos estudios sobre las modificaciones en la magnitud de los parámetros con objeto de mejorar la efectividad de la adhesión dentina-resina y con el fin de determinar si este láser puede reemplazar los acondicionadores utilizados en la actualidad.

En consecuencia, para evaluar si el láser de pulso Ti:Zafiro podía reemplazar al grabado ácido, en la **tercera investigación** nos propusimos evaluar los valores de fuerza de adhesión de un adhesivo de grabado total en dos pasos obtenidos tras la irradiación con dicho láser eliminando del proceso el paso de grabado ácido y comparar los resultados con los obtenidos tras el grabado ácido o una combinación de ambos. Puesto que hemos observado que la energía por pulso del láser influye en gran medida en el proceso de ablación de la dentina, ya que determina el ancho y la profundidad de los surcos que constituyen el patrón del microestructurado, la tasa de ablación y el daño en el tejido adyacente a la

dentina ablacionada, también nos propusimos evaluar cómo afecta la modificación de dicho parámetro al proceso de adhesión. Para ello utilizamos energías de 0.03 mJ, 0.045 mJ y 0.07 mJ, ya que por una parte, eran suficientes para producir una ablación moderada de la dentina y por otra parte, no eran excesivamente altas ni para dar lugar a una remoción excesiva de tejido, ni para producir efectos térmicos indeseables en el tejido dental.

En este estudio, los valores de fuerza de adhesión a la dentina irradiada con el láser de Ti:Zafiro fueron inferiores a los obtenidos con el grabado ácido, independientemente de la energía utilizada (**Tabla 3.2**). A pesar de que la superficie de la dentina, tras la irradiación con el láser con las distintas energías empleadas, aparece con un patrón microretentivo, con ausencia de barrillo dentinario y con gran cantidad de túbulos dentinarios abiertos (**Figura 3.1**), la eficacia de la adhesión dentina-resina se ve disminuida. Además, la posterior aplicación de ácido a las superficies irradiadas, aunque mejora los valores de adhesión, no alcanza los obtenidos tras la aplicación de ácido en el grupo control; este último resultado está en concordancia con nuestro estudio anterior y permite concluir que la utilización del láser de pulso ultracorto para la ablación de la dentina no mejora la adhesión de la interfase resina-dentina cuando se utiliza el adhesivo de grabado total en dos pasos.

Aunque con nuestra investigación no podemos dilucidar los mecanismos responsables de esta disminución en los valores de adhesión, es posible que la irradiación láser de la dentina con las energías utilizadas produzca la ablación de la hidroxiapatita y las fibras de colágeno de la superficie tratada, lo que podría evitar la formación de una adecuada capa híbrida necesaria para la correcta adhesión de la dentina. Por ello, en estas superficies la adhesión se conseguiría básicamente por la penetración del adhesivo en las zonas microrretentivas de la superficie irradiada, mientras que con el grabado ácido la adhesión se consigue, en su mayor parte, por la infiltración del adhesivo en la matriz de colágeno desmineralizada. Además, como ya hemos descrito anteriormente, el patrón de surcos que se genera con la irradiación láser provoca una distribución irregular del adhesivo que rellena los valles y cubre las cimas con una capa más delgada; esto produce una distribución heterogénea del adhesivo en la superficie y, en consecuencia, impide una distribución uniforme del stress en la interfase adhesiva (Lee y

cols., 2007; Cardoso y cols., 2008).

A pesar de que uno de los parámetros más importantes del procesado de materiales con láser es la energía por pulso, su influencia sobre la adhesión de dentina en este estudio parece ser irrelevante.

Era de esperar que la posterior aplicación de ácido sobre la superficie dentinaria mejorara la adhesión de la resina, ya que el ácido ortofosfórico disuelve la hidroxiapatita y expone los túbulos dentinarios para permitir la formación de los *tags* de resina. Pues bien, esto es exactamente lo que sucede, tras el grabado hay más túbulos dentinarios abiertos y su diámetro es mayor (**Figura 3.1**). Así, aunque obtuvimos un aumento en los valores de adhesión no se consiguió alcanzar los valores obtenidos en el grupo control.

Para explicar por qué el procesamiento con láser seguido de grabado ácido no es capaz de igualar los valores de adhesión obtenidos en el grupo control tras la aplicación de ácido, es necesario tener en cuenta el proceso de formación de la capa híbrida. La ablación con láser deja una superficie constituida por hidroxiapatita y fibras de colágeno que han experimentado un proceso de carga térmica durante la irradiación. Aunque esta carga térmica es considerablemente menor que la que ocurre con otras fuentes láser, no es despreciable. De hecho, la extensión de la zona afectada por el calor es del orden de unas pocas micras cuando se utilizan fluencias moderadas (Le Harzic y cols., 2002) como es nuestro caso. En esta zona, la temperatura alcanza, localmente y durante un tiempo muy corto, valores que pueden desnaturalizar las fibras de colágeno y comprometer el espacio interfibrilar necesario para la adhesión (Braun y cols., 2013). Por lo tanto, aunque el grabado ácido posterior elimina selectivamente la hidroxiapatita, la capa híbrida formada deja de ser homogénea ya que las fibras de colágeno se dañaron en una parte notable de la superficie y de forma no homogénea. Por ello, la eficiencia de adhesión de la resina a la dentina no es tan buena como lo fue para superficies grabadas con ácido sin tratamiento láser previo, a pesar de que el número y el diámetro de los túbulos es comparable. Esto podría deberse, como se ha demostrado en estudios previos, a que el número y la extensión de los *tags* de resina es

un factor secundario para la eficiencia de la adhesión dentina-resina en comparación con la generación de una capa híbrida homogénea (Pashley y cols. 1990).

En relación con las observaciones del tipo de fallo, todas las muestras del grupo control mostraron fallo adhesivo ya que no se sometieron al procedimiento de grabado ácido. El barrillo dentinario obstruye los túbulos e impide la penetración de adhesivo en la estructura dentinaria. Como cabría esperar, el tipo de fallo de las muestras que pertenecen al grupo control, pero a las que se ha aplicado grabado ácido, cambia a un fallo mixto, ya que el adhesivo es capaz entonces de penetrar en la red de colágeno expuesta por el grabado ácido (**Tabla 3.3**).

Sin embargo, la evaluación del tipo de fallo de las muestras procesadas con láser no proporciona información muy útil. Como se observa en la **Tabla 3.3**, el tipo de fallo predominante en estos grupos es mixto y no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas entre los distintos subgrupos; esto es, el tipo de fallo no depende ni de la energía de pulso utilizada ni de la aplicación posterior de grabado ácido. El predominio de este tipo de fallo es coherente ya que, como se puede observar en las imágenes con MEB (**Figura 3.1**), las superficies de dentina tratadas con láser son onduladas y presentan gran cantidad de túbulos dentinarios abiertos, independientemente de la posterior aplicación de ácido. La presencia de estas irregularidades en la superficie produce una distribución no homogénea del stress, lo que provoca un predominio de fallos mixtos.

En resumen, en esta tesis doctoral se ha investigado la capacidad del láser de Ti:Zafiro para la ablación de la dentina y se ha evaluado la eficacia adhesiva resina-dentina de distintos sistemas a este sustrato irradiado, así como la necesidad de la aplicación de grabado ácido tras la irradiación, con la intención de suprimirlo ahorrando tiempo, pasos y los efectos adversos que produce el grabado con ácido ortofosfórico. Los resultados obtenidos tras la ablación del láser con pulso ultracorto han sido muy satisfactorios ya que han permitido realizar cavidades muy precisas, con ausencia de daño térmico y mecánico, además de obtener una superficie aparentemente ideal para los posteriores procesos adhesivos (superficie rugosa,

libre de barrillo dentinario y con los túbulos dentinarios abiertos). Sin embargo, los resultados obtenidos al estudiar la eficacia adhesiva de la interfase resina-dentina no han sido óptimos en el caso de sistemas autograbadores de dos pasos y de grabado total de dos pasos; pensamos que debido a que en la actualidad los sistemas adhesivos comercializados están diseñados para el clínico que emplea el instrumental rotatorio convencional que deja un sustrato sobre el que se aplican estos adhesivos diferente al obtenido con la irradiación de un láser de pulsos ultracorto, y, en nuestra opinión, es necesario investigar sobre otros sistemas adhesivos, o bien la creación de nuevos, que permitan una adhesión óptima a las superficies tratadas con este láser.

Esto no es así en el caso del esmalte, con el que tras realizar investigaciones sobre adhesión de *brackets* a la superficie de esmalte irradiada con el láser de Ti:Zafiro, hemos obtenido resultados muy satisfactorios en los que se observa una mejora en la resistencia adhesiva; esto se puede explicar debido a la diferencia de comportamiento en el proceso de adhesión entre ambos tejidos como consecuencia de su diferente composición química (Lorenzo y cols., 2013a; Lorenzo y cols., 2013b).

A pesar de que los resultados obtenidos en adhesión a dentina no han sido tan favorables, esta investigación nos ha permitido extraer información muy valiosa que será de gran utilidad en investigaciones posteriores. La gran cantidad de parámetros y estrategias de procesado posibles con esta herramienta aún mantienen las expectativas muy altas en cuanto a la posibilidad de convertirse, con un sistema adhesivo adecuado, en una alternativa viable a la técnica mecánica convencional.





CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en las investigaciones llevadas a cabo en esta tesis, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

PRIMERA:

La aplicación del láser de pulso ultracorto (Ti:Zafiro) se presenta como una alternativa a la técnica mecánica convencional puesto que permite la ablación de la dentina con efectos colaterales mínimos sobre el tejido original remanente.

SEGUNDA:

El acondicionamiento dentinario previo, tras la irradiación con láser de Er:YAG y de Ti:Zafiro, disminuye la eficacia adhesiva resina-dentina cuando se utiliza un adhesivo de grabado total de dos pasos o autograbador de dos pasos; sin embargo, las fuerzas de microtensión se mantienen iguales al emplear un adhesivo autograbador de un paso.

TERCERA:

El microestructurado de la dentina con el láser de Ti:Zafiro disminuye las fuerzas de microtensión del adhesivo de grabado total de dos pasos al sustituirlo por el acondicionamiento con ácido ortofosfórico. De hecho, se ha observado que aunque la posterior aplicación de grabado ácido sobre la dentina irradiada mejora los valores de adhesión, éstos no alcanzan los obtenidos tras la aplicación del grabado ácido sin tratamiento láser previo. Las distintas energías de pulso del láser empleadas, para ablaciones moderadas de dentina, no afectan a la eficacia adhesiva resina-dentina de los adhesivos de grabado total de dos pasos.





CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

Abbott PV, Heijkoop PS, Cardaci SC, Hume WR, Heithersay GS. An SEM study of the effects of different irrigation sequences and ultrasonics. *Int Endod J.* 1991; 24(6): 308-16.

Albaladejo A. Estudio *in vitro* de factores que afectan la durabilidad de la adhesión a dentina. Tesis doctoral. Granada: Ed. Universidad de Granada; 2006.

Albaladejo A, Osorio R, Toledano M, Ferrari M. Hybrid layers of etch-and-rinse *versus* self-etching adhesive systems. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010; 15(1): 112-8.

Altshuler GB, Belashenkov NR, Karasev VB, Skripnik AV, Solunin AA. Application of ultra-short laser pulses in dentistry. *Proc SPIE.* 1993; 2080: 77-81.

Alves S, Oliveira V, Vilar R. Femtosecond laser ablation of dentin. *J Phys D: Appl Phys.* 2012; 45(24): 5401.

Anic I, Vidovic D, Luic M, Tudja M. Laser induced molar tooth pulp chamber temperature changes. *Caries Res.* 1992; 26: 165-9.

Ansari ZJ, Sadr A, Moezizadeh M, Aminian R, Ghasemi A, Shimada Y, Tagami J, Ansari SJ, Moayedi S. Effects of one-year storage in water on bond strength of self-etching adhesives to enamel and dentin. *Dent Mater J.* 2008; 27(2): 266-72.

Apel C, Schafer C, Gutknecht N. Demineralization of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel cavities *in vitro*. *Caries Res.* 2003; 37: 34-7.

Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB. Mode of failure in dentin-adhesive resin-resin composite bonded joint as determined by strength based (mTBS) and fracture-based (CNSB) mechanical testing. *Dent Mater.* 2001; 17: 201-10.

Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater.* 2010; 26(2): e50-62.

Asmussen E, Peutzfeldt A. Resin composites: Strength of the bond to dentin versus surface energy parameters. *Dent Mater.* 2005; 21(11): 1039-43.

Attrill DC, Davies RM, King TA, Dickinson MR, Blinkhorn AS. Thermal effects of the Er:YAG laser on a simulated dental pulp: a quantitative evaluation of the effects of a water

spray. *J Dent.* 2004; 32: 35-40.

Baracco B, Fuentes MV, Garrido MA, González-López S, Ceballos L. Effect of thermal aging on the tensile bond strength at reduced areas of seven current adhesives. *Odontology.* 2013; 101(2): 177-85.

Bello-Silva MS, Wehner M, Eduardo C, Lampert F, Poprawe R, Hermans M, Esteves-Oliveira M. Precise ablation of dental hard tissues with ultra-short pulsed lasers. Preliminary exploratory investigation on adequate laser parameters. *Lasers Med Sci.* 2013; 28(1): 171-84.

Bhaskar SN. *Histología y embriología bucal.* 1ª ed. México: Prado; 1993.

Bloembergen N. Laser-induced electric breakdown in solids. *IEEE J Quant Electron* 1974; 10(3): 375-86.

Boehm R, Rich J, Webster J, Janke S. Thermal stress effects and surface cracking associated with laser use on human teeth. *J Biomech Eng.* 1977; 77: 189-94.

Bourgeois F, Ben-Yakar A. Femtosecond laser nanoaxotomy properties and their effect on axonal recovery in *C. elegans*. *Opt Express.* 2008; 16(8): 5963.

Bradna P, Vrbova R, Dudek M, Roubickova A, Housova D. Comparison of bonding performance of self-etching and etch-and-rinse adhesives on human dentin using reliability analysis. *J Adhes Dent.* 2008; 10(6): 423-9.

Braun A, Krillke RF, Frentzen M, Bourauel C, Stark H, Schelle F. Heat generation caused by ablation of dental hard tissues with an ultrashort pulse laser (USPL) system. *Lasers Med Sci.* 2013 [Epub ahead of print].

Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, De Stefano Dorigo E, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater.* 2010; 26(6): 571-8.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008; 24(1): 90-101.

Brudevold F, Buonocore MG, Wileman W. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. *J Dent Res*; 1956; 35(6): 846-51.

Brulat N, Rocca JP, Leforestier E, Fiorucci G, Nammour S, Bertrand MF. Shear bond strength of self-etching adhesive systems to Er:YAG-laser-prepared dentin. *Lasers Med Sci*. 2009; 24: 53–7.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955; 34(6): 849-53.

Burke FJ, McCaughey AD. The four generations of dentin bonding. *Am J Dent*. 1995; 8(2): 88-92.

Burrow MF. Clinical evaluation of non-cariou cervical lesion restorations using a HEMA-free adhesive: three-year results. *Aust Dent J*. 2011; 56(4): 401-5.

Calt S, Serper A. Smear layer removal by EGTA. *J Endod*. 2000; 26(8): 459-61.

Cardoso MV, Coutinho E, Ermis RB, Poitevin A, Van Landuyt K, De Munck J, Carvalho RC, Van Meerbeek B. Influence of dentin cavity surface finishing on micro-tensile bond strength of adhesives. *Dent Mater*. 2008; 24(4): 492-501.

Cardoso MV, de Almeida NA, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*. 2011; 56(Suppl): 31–44.

Carvalho RM, Mendonça JS, Santiago SL, Silveira RR, Garcia FC, Tay FR, Pashley DH. Effects of HEMA/solvent combinations on bond strength to dentin. *J Dent Res*. 2003; 82(8): 597-601.

Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials*. 2005; 26(9): 1035-42.

Cavalcanti BN, Lage-Marques JL, Rode SM. Pulpal temperature increases with Er:YAG laser and high-speed handpieces. *J Prosthet Dent*. 2003; 90: 447-51.

Cavalcanti BN, Otani C, Rode SM. High-speed cavity preparation techniques with different

water flows. J Prosthet Dent. 2002; 87(2): 158-61.

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

Celik C, Ozel Y, Bagis B, Erkut S. Effect of laser irradiation and cavity disinfectant application on the microtensile bond strength of different adhesive systems. Photomed Laser Surg. 2010; 28: 267-72.

Chappell RP, Cobb CM, Spencer P, Eick JD. Dentinal tubule anastomosis: a potential factor in adhesive bonding? J Prosthet Dent. 1994; 72(2): 183-8.

Chen X, Liu X. Short pulsed laser machining: How short is short enough? J Laser Appl. 1999; 11: 268-72.

Chen H, Liu J, Ge WQ, Sun YC, Wang Y, Lü PJ. Effects of fluence and scanning velocity on the ablation efficiency of dentin and enamel by femtosecond laser. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2013; 48(5): 299-302.

Chichkov BN, Momma C, Nolte S, von Alvensleben F y Tunnermann A. Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation solids. Appl Phys A. 1996; 63: 109-15.

Choi H, Choi M, Choi K, Choi C. Blockade of vascular endothelial growth factor sensitizes tumor-associated vasculatures to angiolytic therapy with a high-frequency ultrashort pulsed laser. Microvasc Res. 2011; 82(2): 141-6.

Chowdhary N, Subba Reddy VV. Dentin comparison in primary and permanent molars under transmitted and polarised light microscopy: an *in vitro* study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2010; 28(3): 167-72.

Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley D. Dentinal fluid dynamics in human teeth, *in vivo*. J Endod. 1995; 21(4): 191-4.

Collares FM, Ogliari FA, Zanchi CH, Petzhold CL, Piva E, Samuel SM. Influence of 2-hydroxyethyl methacrylate concentration on polymer network of adhesive resin. J Adhes Dent. 2011; 13: 125-9.

Colucci V, do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona SA. Effects of water flow

on ablation rate and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation. *Am J Dent*. 2012; 25(6): 332-6.

Correa-Afonso AM, Palma-Dibb RG. Thermal effects caused by different methods of cavity preparation. *J Oral Laser App*. 2007; 7: 115-121.

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

Cohen S. Pathways of the pulp. 8^a ed. St Louis: Mosby; 2002.

Cox CJ, Pearson GJ, Palmer G. Preliminary *in vitro* investigation of the effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on enamel and dentin. *Biomaterials*. 1994; 15: 1145-51.

Da Silva MP, Barceleiro MO, Dias KR, Zanin F. Shear bond strength of two adhesive systems bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. *Gen Dent*. 2011; 59(3): e96-100.

Da Silva JM, Rodrigues JR, Camargo CH, Fernandes VV Jr, Hiller KA, Schweikl H, Schmalz G. Effectiveness and biological compatibility of different generations of dentin adhesives. *Clin Oral Investig*. 2013 [Epub ahead of print].

Davari A, Sadeghi M, Bakhshi H. Shear bond strength of an etch-and-rinse adhesive to Er:YAG laser- and/or phosphoric acid-treated dentin. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2013; 7(2): 67-73.

De Carvalho RC, de Freitas PM, Otsuki M, de Eduardo CP, Tagami J. Micro-shear bond strength of Er:YAG-laser-treated dentin. *Lasers Med Sci*. 2008; 23: 117-24.

De Moor RJ, Delme KI. Laser-assisted cavity preparation and adhesion to erbium-lased tooth structure: part 2. Present-day adhesion to erbium-lased tooth structure in permanent teeth. *J Adhes Dent*. 2010; 12(2): 91-102.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yuthira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium:YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci*. 2002; 110: 322-29.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and

results. *J Dent Res.* 2005; 84(2): 118-32.

De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res.* 2009; 88(12): 1101-6.

De Oliveira MT, Reis AF, Arrais CA, Cavalcanti AN, Aranha AC, de Paula Eduardo C, Giannini M. Analysis of the interfacial micromorphology and bond strength of adhesive systems to Er:YAG laser-irradiated dentin. *Lasers Med Sci.* 2013; 28(4): 1069-76.

Delgado-Ruiz RA, Calvo-Guirado JL, Moreno P, Guardia J, Gomez-Moreno G, Mate-Sánchez JE, Ramirez-Fernández P, Chiva F. Femtosecond laser microstructuring of zirconia dental implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011; 96(1): 91-100.

Doronina LV, Fedotov IV, Voronin AA, Ivashkina OI, Zots MA, Anokhin KV, Rostova E, Fedotov AB, Zheltikov AM. Tailoring the soliton output of a photonic crystal fiber for enhanced two-photon excited luminescence response from fluorescent protein biomarkers and neuron activity reporters. *Opt Lett.* 2009; 34(21): 3373-5.

Dostalova T, Jelinkova H, Krejsa O, Hamal H. Evaluation of the surface changes in enamel and dentin due to possibility of thermal overheating induced by Erbium:YAG laser radiation. *Scanning Microsc.* 1996; 10: 285-90.

Dourda AO, Moule AJ, Young WG. A morphometric analysis of the cross-sectional area of dentine occupied by dentinal tubules in human third molar teeth. *Int Endod J.* 1994; 27(4): 184-9.

Eberhard J, Bode K, Hedderich J, Jepsen S. Cavity size difference after caries removal by fluorescence-controlled Er:YAG laser and by conventional bur treatment. *Clin Oral Investig.* 2008; 12: 311-8.

Eren D, Bektaş ÖÖ, Siso SH. Three different adhesive systems; three different bond strength test methods. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71(3-4): 978-83.

Erickson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent.* 1992; Suppl 5: 81-94.

Erickson RL, Barkmeier WW, Latta MA. The role of etching in bonding to enamel: a comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems. *Dent Mater.* 2009; 25(11): 1459-67.

Eversole LR, RizoIU IM. Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium: YSGG laser. *J Calif Dent Assoc.* 1995; 23: 41-7.

Feit MD, Rubenchik AM, Shore BW. Unique aspects of laser energy deposition in the fs pulse regime. *Proc SPIE.* 1996; 2672: 243-49.

Feitosa VP, Correr AB, Correr-Sobrinho L, Sinhoreti MA. Effect of a new method to simulate pulpal pressure on bond strength and nanoleakage of dental adhesives to dentin. *J Adhes Dent.* 2012; 14(6): 517-24.

Feitosa VP, Gotti VB, Grohmann CV, Abuná G, Correr-Sobrinho L, Sinhoreti MA, Correr AB. Two methods to simulate intrapulpal pressure: effects upon bonding performance of self-etch adhesives. *Int Endod J.* 2013 [Epub ahead of print].

Ferrari M, Mannocci F, Vichi A, Cagidiaco MC, Mjör IA. Bonding to root canal: structural characteristics of the substrate. *Am J Dent.* 2000; 13(5): 255-60.

Ferreira JC, Pires PT, Azevedo AF, Oliveira SA, Melo PR, Silva MJ. Influence of solvents and composition of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems on the nanoleakage within the hybrid layer. *J Contemp Dent Pract.* 2013; 14(4): 691-9.

Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent.* 2000; 25(4): 324-30.

Frederickson KS, White WE, Wheeland RG, Slaughter DR. Precise ablation of skin with reduced collateral damage using the femtosecond-pulsed, terawatt titanium-sapphire laser. *Arch Dermatol.* 1993; 129(8): 989-93.

Frentzch M, Koort HJ. Lasers in dentistry new possibilities with advancing laser technology? *Int Dent J.* 1990; 40: 323-32.

Fritz UB, Finger WJ. Bonding efficiency of single-bottle enamel/dentin adhesives. *Am J Dent.*

1999; 12(6): 277-82.

Gabel CV, Antonie F, Chuang CF, Samuel ADT, Chang C. Distinct cellular and molecular mechanisms mediate initial axon development and adult-stage axon regeneration in *C. elegans*. *Development*; 2008; 135: 1129-36.

Gamaly EG, Rode AV, Luther-Davies B, Tikhonchuk VT. Ablation of solids by fs lasers: Ablation mechanism and ablation thresholds for metals and dielectrics. *Physics of Plasmas* 2002; 9: 949-57.

García Barbero J, Kessler Nieto F. Patología y terapéutica dental. Parte II: Operatoria dental. Madrid: Síntesis; 1997.

Ghassemieh E. Evaluation of sources of uncertainties in microtensile bond strength of dental adhesive system for different specimen geometries. *Dent Mater.* 2008; 24(4): 536-47.

Gerhardt-Szep S, Werelius K, de Weerth F, Heidemann D, Weigl P. Influence of femtosecond laser treatment on shear bond strength of composite resin bonding to human dentin under simulated pulpal pressure. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012; 100(1): 177-84.

Gibbon P, Förster E. Short-pulse laser-plasma interactions. *Plasma Phys Control Fusion.* 1996; 38: 769-93.

Girard B, Cloutier M, Wilson DJ, Clokie CML, Miller RJD, Wilson BC. Microtomographic analysis of healing of femtosecond laser bone calvarial wounds compared to mechanical instruments in mice with and without application of BMP-7. *Lasers Surg Med.* 2007; 39(5): 458-67.

Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci.* 2011; 3: 711-35.

Goldman L, Blaney DJ, Kindel DJ Jr, Franke EK. Effect of the laser beam on the skin. Preliminary report. *J Invest Dermatol.* 1963a; 40: 121-2.

Goldman L, Blaney DJ, Kindel DJ Jr, Richfield D, Franke EK. Pathology of the effect of the laser beam on the skin. *Nature.* 1963b; 197(2): 912-4.

Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature*. 1964; 25: 417.

Goldman L, Gray JA, Goldman J, Goldman B, Meyer R. Effect of laser beam impacts on teeth. *J Am Dent Assoc*. 1965; 70: 601-6.

Goracci C, Cury AH, Cantoro A, Papacchini F, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength and interfacial properties of self-etching and self-adhesive resin cements used to lute composite onlays under different seating forces. *J Adhes Dent*. 2006; 8(5): 327-35.

Guo SX, Bourgeois F, Chokshi T, Durr NJ, Hilliard MA, Chronis N, Ben-Yakar A. Femtosecond laser nanoaxotomy lab-on-a chip for *in vivo* nerve regeneration studies. *Nature Methods* 2008; 5: 531-3.

Gwinnett AJ, Tay FR, Pang KM, Wei SH. Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. *Am J Dent*. 1996; 9: 140-4.

Haller B. Recent developments in dentin bonding. *Am J Dent*. 2000; 13(1): 44-50.

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

Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu C, Kumagai H, Kudou Y, Kubota M, Oguchi H. SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2003; 66(1): 287-98.

Hayakawa T, Nemoto K, Horie K. Adhesion of composite to polished dentin retaining its smear layer. *Dent Mater*. 1995; 11(3): 218-22.

Heiroth S, Lippert T, Wokaun A, Koch J, Günther D, Garrelie F, Guillermin M. Laser ablation characteristics of yttria-doped zirconia in the nanosecond and femtosecond regime. *J Appl Phys*. 2010; 107: 014908.

Heisterkamp A, Mamom T, Kermani O, Drommer W, Welling H, Ertmer W, Lubatschowski H. Intrastromal refractive surgery with ultrashort laser pulses: *in vivo* study on the rabbit eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2003; 241(6): 511-7.

Henning T, Nieswand E, Rechmann P. A new picosecond laser emitting blue light for use in periodontology. En: Rechmann P, Fried D, Henning T. Lasers in dentistry VII. Proc SPIE. 2001; 4249: 36-43.

Hibst R, Keller U, Steiner R. Die Wirkung gepulser Er:YAG laser-strahlung auf zahngewebe. Lasers Surg Med. 1988; 4: 163-5.

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

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Nakamura G, Matsumoto K. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. J Clin Laser Med Surg. 1999; 17: 105-9.

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

Hoy CL, Durr NJ, Chen P, Piyawattanametha W, Ra H, Solgaard O, Ben-Yakar A. Miniaturized probe for femtosecond laser microsurgery and two-photon imaging. Optics Express. 2008; 16: 9996–10005.

Iaria G. Clinical, morphological, and ultrastructural aspects with the use of Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers in restorative dentistry. Gen Dent. 2008; 56(7): 636-9.

Ikemura K, Ichizawa K, Endo T. Design of a new self-etching HeMA-free adhesive. Dent Mater J. 2009; 28(5): 558-64.

Ikemura K, Jogetsu Y, Shinno K, Nakatsuka T, Endo T, Kadoma Y. Effects of a newly designed HEMA-free, multi-purpose, single-bottle, self-etching adhesive on bonding to dental hard tissues, zirconia-based ceramics, and gold alloy. Dent Mater J. 2011; 30(5): 616-25.

Jayaprakash T, Srinivasan MR, Indira R. Evaluation of the effect of surface moisture on dentinal tensile bond strength to dentine adhesive: An *in vitro* study. J Conserv Dent. 2010; 13: 116–8.

Ji L, Li L, Devlin H, Liu Z, Jiao J, Whitehead D. Ti:sapphire femtosecond laser ablation of

dental enamel, dentine, and cementum. *Lasers Med Sci.* 2012; 27(1): 197-204.

Jiang Q, Chen M, Ding J. Comparison of tensile bond strengths of four one-bottle self-etching adhesive systems with Er:YAG laser-irradiated dentin. *Mol Biol Rep.* 2013; 40(12): 7053-9.

Juhasz T, Loesel HL, Kurtz RM, Horvath C, Bille JF, Mourou G. Corneal refractive surgery with femtosecond lasers. *IEEE J Sel Top Quant Electron.* 1999; 5: 902-10.

Kabas A, Ersoy T, Gülsoy M, Akturk S. Femtosecond laser etching of dental enamel for bracket bonding. *J Biomed Opt.* 2013; 18(9): 98003.

Kameyama A, Kawada E, Takizawa M, Oda Y, Hirai Y. Influence of different acid conditioners on the tensile bond strength of 4-META/MMA-TBB resin to Er:YAG laser-irradiated bovine dentin. *J Adhes Dent.* 2000; 2: 297-304.

Kautek W, Mitterer S, Krüger J, Husinsky W, Grabner G. Femtosecond pulse laser ablation of human corneas. *Appl Phys A.* 1994; 58(5): 513-8.

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

Kermani O, Lubatschowski H, Asshauer T, Ertmer W, Lukin A, Ermakov B, Krieglstein GK. Q-switched CTE:YAG (2.69 microns) laser ablation: basic investigations on soft (corneal) and hard (dental) tissues. *Laser Surg Med.* 1993; 13: 537-42.

Kim BM, Feit MD, Rubenchik AM, Joslin EJ, Celliers PM, Eichler J, Da Silva LB. Influence of pulse duration on ultra-short laser pulse ablation of biological tissue. *J Biomed Opt.* 2001; 6(3): 332-8.

Koga K, Tsujimoto A, Ishii R, Iino M, Kotaku M, Takamizawa T, Tsubota K, Miyazaki M. Influence of oxygen inhibition on the surface free-energy and dentin bond strength of self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2011; 119(5): 395-400.

Kohns P, Zhou P, Stromann R. Effective laser ablation of enamel and dentin without thermal side effects. *J Laser Appl.* 1997; 9: 171-4.

Koliniotou-Koumpia E, Kouros P, Dionysopoulos D, Zafiriadis L. Bonding strength of silorane-based composite to Er-YAG laser prepared dentin. *Lasers Med Sci.* 2013 [Epub ahead

of print].

Kononenko TV, Konov VI, Garnov SV, Danielus R, Piskarskas A, Tamoshauskas G, Dausinger F. Comparative study of the ablation of materials by femtosecond and pico or nanosecond laser pulses. *Quant Electron.* 1999; 29(8): 724-8.

Kruger J, Kautek W, Newesely H. Femtosecond-pulse laser ablation of dental hydroxyapatite and single-crystalline fluoroapatite. *Appl Phys A.* 1999; 69(Suppl): S403-7.

Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131(Suppl): 20-5.

Kuper S, Stuke M. Femtosecond uv excimer laser ablation. *Appl Phys B.* 1987; 44(4): 199-204.

Lee BS, Lin PY, Chen MH, Hsieh TT, Lin CP, Lai JY, Lan WH. Tensile bond strength of Er,Cr:YSGG laser-irradiated human dentin and analysis of dentin-resin interface. *Dent Mater.* 2007; 23: 570–78.

Le Harzic R, Huot N, Audouard E, Jonin C, Laporte P, Valette S, Fraczkiewicz A, Fortunier R. Comparison of heat-affected zones due to nanosecond and femtosecond laser pulses using transmission electronic microscopy. *Appl Phys Lett.* 2002; 80: 3886–8.

Li ZZ, Code JE, Van De Merwe WP. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. *Lasers Surg Med.* 1992; 12: 625–30.

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

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

Loesel FH, Niemz MH, Bille JB, Juhasz T. Laser- induced optical breakdown on hard and soft tissues and its dependence on pulse duration: experiment and model. *IEEE J Quant Electron.* 1996; 32: 1717-22.

Loesel FH, Fischer JP, Gotz MH, Horvath C, Juhasz T, Noack F, Suhm N, Bille JF. Non-thermal ablation of neural tissue with femtosecond laser pulses. *Applied Physics B*. 1998; 66: 121-8.

London RA, Bailey DS, Young DA, Alley WE, Feit MD, Rubenchik AM. Hydrodynamic model for ultra-short pulse ablation of hard dental tissue. *Proc SPIE*. 1996; 2672: 231-42.

Lorenzo MC, Portillo M, Moreno P, Montero J, Castillo-Oyagüe R, García A, Albaladejo A. *In vitro* analysis of femtosecond laser as an alternative to acid etching for achieving suitable bond strength of brackets to human enamel. *Lasers Med Sci*. 2013a [Epub ahead of print].

Lorenzo MC, Portillo M, Moreno P, Montero J, García A, Santos- Del Riego SE, Albaladejo A. Ultrashort pulsed laser conditioning of human enamel: *in vitro* study of the influence of geometrical processing parameters on shear bond strength of orthodontic brackets. *Lasers Med Sci*. 2013b [Epub ahead of print].

Lubatschowski H, Maatz G, Heisterkamp A, Hetzel U, Drommer W, Welling H, Ertmer W. Application of ultrashort laser pulses for intrastromal refractive surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2000; 238: 33-9.

Luengo MC, Portillo M, Sánchez JM, Peix M, Moreno P, García A, Montero J, Albaladejo A. Evaluation of micromorphological changes in tooth enamel after mechanical and ultrafast laser preparation of surface cavities. *Lasers Med Sci*. 2013; 28(1): 267-73.

Maatz G, Heisterkamp A, Lubatschowski H, Barcikowski S, Fallnich C, Welling H, Ertmer W. Chemical and physical side effects at application of ultrashort laser pulses for intrastromal refractive surgery. *J Opt A*. 2000; 2: 59-64.

Mahdan MH, Nakajima M, Foxton RM, Tagami J. Combined effect of smear layer characteristics and hydrostatic pulpal pressure on dentine bond strength of HEMA-free and HEMA-containing adhesives. *J Dent*. 2013; 41(10): 861-71.

Maiman T. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*. 1960; 187: 493-4.

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

Marion JE, Kin BM. Medical applications of ultra-short pulse lasers. Proc SPIE 1999; 3910: 42-50.

Matinlinna JP, Mittal KL. Adhesion Aspects in Dentistry. United States: Hardcover; 2009.

Matsumoto K, Hossain M, Tsuzuki N, Yamada Y. Morphological and compositional changes of human dentine after Er:YAG laser irradiation. J Oral Laser Applic. 2003; 3(1): 15-20.

Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. Biomaterials. 2006; 27(25): 4470-6.

Meharry MR, Moazzami SM, Li Y. Comparison of enamel and dentin shear bond strengths of current dental bonding adhesives from three bond generations. Oper Dent. 2013; 38(6): E237-45.

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

Mendez JC, Pabon GE, Hilgenberg SP, Garcia EJ, Arana-Correa B. Effect of water storage on microtensile bond strength of a two-step self-etch adhesive and a two-step etch-and-rinse adhesive. Acta Odontol Latinoam. 2012; 25(2): 176-80.

Mindermann A, Niemz M, Eisenmann L, Loesel FH, Bille JF. Comparison of three different laser systems for application in dentistry. Proc SPIE. 1993; 2080: 68-76.

Miserendino LJ, Pick RM. Lasers in Dentistry. Singapor: Quintessence; 1995.

Mjör IA, Fejerskov O. Embriología e Histología Oral Humana. Barcelona: Salvat; 1989.

Momma C, Chichkov B, Nolte S, von Alvensleben F, Tünnermann A, Welling H. Short-pulse laser ablation of solid targets. Opt Commun. 1996; 129: 134-42.

Moretto SG, Azambuja N Jr, Arana-Chavez VE, Reis AF, Giannini M, Eduardo Cde P, De Freitas PM. Effects of ultramorphological changes on adhesion to lased dentin-Scanning electron microscopy and transmission electron microscopy analysis. Microsc Res Tech. 2011; 74(8): 720-6.

Moulton P.F. Spectroscopic and laser characteristics of Ti:Al₂O₃. J Opt Soc Am. 1986; 3(1): 125.

Moura S, Reis A, Pelizzaro A, Dal-Bianco K, Loguercio AD, Arana VE, Grande RH. Bond strength and morphology of enamel using self-etching adhesive systems with different acidities. J Appl Oral Sci. 2009; 17(4): 315-25.

Myers TD, Myers WD. *In vivo* caries removal utilizing the YAG laser. J Mich Dent Assoc. 1985a; 67(2): 66-9.

Myers TD, Myers WD. The use of a laser for debridement of incipient caries. J Prosthet Dent. 1985b; 53(6): 776-9.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substates. J Biomed Mat Res. 1982; 16(3): 265-73.

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. J Esthet Dent. 1991; 3: 133-8.

Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. Dent Mater. 1992; 8(2): 125-30.

Neev J, Carrasco WA, Armstrong WB, Da Silva LB, Feit MD, Matthews DL, Perry MD, Rubenchik AM, Stuart BC. Applications of ultrashort pulse lasers for hard tissue surgery. Proc SPIE. 1996a; 2671: 149:57.

Neev J, Da Silva LB, Feit MD, Perry MD, Rubenchik AM, Stuart BC. Ultrashort pulse lasers for hard tissue ablation. IEEE J Sel Top Quant Electron. 1996b; 2(4): 790-800.

Nicolodelli G, Kurachi C, Bagnato VS. Femtosecond laser ablation profile near an interface: Analysis based on the correlation with superficial properties of individual materials. Appl Surf Sci. 2011; 257: 419-22.

Nikolaenko SA, Lohbauer U, Roggendorf M, Petschelt A, Dasch W, Frankenberger R. Influence of c-factor and layering technique on microtensile bond strength to dentin. Dent Mater. 2004; 20: 579-85.

Niemz MH, Eisenmann L, Pioch T. A comparison of 3 laser systems for dental enamel

ablation. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 1993; 103(10): 1252-6.

Niemz MH. Investigation and spectral analysis of the plasma induced ablation mechanism of dental hydroxyapatite. *Appl Phys B.* 1994; 58(4): 273-81.

Niemz MH. Threshold dependence of laser-induced optical breakdown on pulse duration. *Appl Phys Lett.* 1995a; 66(10): 1181-3.

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

Niemz MH. Ultrashort laser pulses in dentistry: advantages and limitations. *Proc SPIE.* 1998; 3255: 84-91.

Niemz MH, Kasenbacher A, Strassl M, Bäcker A, Beyerti A, Nickel D, Giesen A. Tooth ablation using a CPA- free thin disk femtosecond laser system. *Appl. Phys.* 2004; 79: 269-71.

Nishimura N, Schaffer CB, Friedman B, Tsai PS, Lyden PD, Kleinfeld D. Targeted insult to individual subsurface cortical blood vessels using ultrashort laser pulses: Three models of stroke. *Nature Methods.* 2006; 3: 99-108.

Nolte S, Momma C, Jacobs H, Tunnermann A, Chichkov BN, Wellegehausen B, Welling H. Ablation of metals by ultrashort laser pulses. *J Optical Soc Am B-Optical Phys.* 1997; 14(10): 2716-22.

Odabaş ME, Bani M, Tirali RE. Shear bond strengths of different adhesive systems to biodentine. *Scientific World Journal.* 2013; 10: 626103.

Odhner J, Levis R. Optical Spectroscopy Using Gas-Phase Femtosecond Laser Filamentation. *Annu Rev Phys Chem.* 2014 [Epub ahead of print].

Oliveira DC, Manhães LA, Marques MM, Matos AB. Microtensile bond strength analysis of different adhesive systems and dentin prepared with high-speed and Er:YAG laser: a comparative study. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 219-24.

Oraevsky A, Da Silva L, Rubenchik A, Feit M, Glinsky M, Perry M, Mammini B, Small W, Stuart B. Plasma mediated ablation of biological tissues with nanosecond-to-femtosecond laser pulses: Relative role of linear and nonlinear absorption. *IEEE J Sel Top Quant Electron.*

1996; 2: 801-9.

Osorio R, Toledano M, de Leonardi G, Tay F. Microleakage and interfacial morphology of self-etching adhesives in class V resin composite restorations. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2003; 66(1): 399-409.

Osorio R, Pisani-Proenca J, Erhardt MC, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR, Toledano M. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentine bond degradation. *J Dent.* 2008; 36(2): 163-9.

Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, Tay FR, Pinto A, Toledano M. Influence of application parameters on bond strength of an “all in one” water-based self-etching primer/adhesive after 6 and 12 months of water aging. *Odontology.* 2010; 98(2): 117-25.

Ozer F, Blatz MB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. *Compend Contin Educ Dent.* 2013; 34(1): 12-4.

Parker S. Surgical lasers and hard dental tissue. *Br Dent J.* 2007; 202: 445-54.

Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent.* 1981; 46(5): 531-7.

Pashley DH. Interactions of dental materials with dentin. *Trans Acad Dent Mat.* 1990; 3: 55-73.

Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater.* 1995; 11(2): 117-25.

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshijama M, Shono Y. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent.* 1999; 1: 299-309.

Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater.* 2001; 17(5): 430-44.

Perdigão J, Ramos JC, Lambrechts P. *In vitro* interfacial relationship between human dentin and one-bottle dental adhesives. *Dent Mater.* 1997; 13(4): 218-27.

Perdigão J, Lopes MM, Gomes G. *In vitro* bonding performance of self-etch adhesives: II--ultramorphological evaluation. *Oper Dent.* 2008; 33(5): 534-49.

Perdigão J, Dutra-Correa M, Anauate-Netto C, Castilhos N, Carmo AR, Lewgoy HR, Amore R, Cordeiro HJ. Two-year clinical evaluation of self-etching adhesives in posterior restorations. *J Adhes Dent.* 2009; 11(2): 149-59.

Perry MD, Stuart BC, Banks PS, Feit MD, Yanovsky V, Rubenchik AM. Ultrashort-pulsed laser machining of dielectric materials. *J Appl Phys.* 1999; 85(9): 6803-10.

Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater.* 2005; 21(9): 864-81.

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

Placido E, Meira JB, Lima RG, Muench A, de Souza RM, Ballester RY. Shear versus micro-shear bond strength test: a finite element stress analysis. *Dent Mater.* 2007; 23(9): 1086-92.

Plötz C, Schelle F, Bourauel C, Frentzen M, Meister J. Ablation of porcine bone tissue with an ultrashort pulsed laser (USPL) system. *Lasers Med Sci.* 2014 [Epub ahead of print].

Pronko PP, Dutta SK, Squier SJ, Rudd JV, Du D, Mourou G. Machining of sub-micron holes using a femtosecond laser at 800 nm. *Opt Commun.* 1995; 114: 106-10.

Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. Effect of cross-sectional surface area on bond strengths between resin and dentin. *Dent Mater.* 1998; 14(2): 120-8.

Rahal V, de Oliveira FG, Briso AL, dos Santos PH, Sundfeld ML, Sundfeld RH. Correlation between hybrid layer thickness, resin tag length and microtensile bond strength of a self-etching adhesive system. *Acta Odontol Latinoam.* 2012; 25(2): 231-7.

Ratkay-Traub I, Ferincz IE, Juhasz T, Kurtz RM, Krueger RR. First clinical results with the femtosecond neodymium-glass laser in refractive surgery. *J Refract Surg.* 2003; 19(2): 94-103.

Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 21ª ed. Madrid; 2001.

Rego Filho F de A, Dutra-Corrêa M, Nicolodelli G, Bagnato VS, de Araujo MT. Influence of the hydration state on the ultrashort laser ablation of dental hard tissues. *Lasers Med Sci.*

2013; 28(1): 215-22.

Reis A, Loguercio AD, Manso AP, Grande RH, Schiltz-Taing M, Suh B, Chen L, Carvalho RM. Microtensile bond strengths for six 2-step and two 1-step self-etch adhesive systems to enamel and dentin. *Am J Dent.* 2013; 26(1): 44-50.

Rizioiu IM, Eversole LR, Kimmel AI. Effects of an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser on mucocutaneous soft tissues. *Oral Surg med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82: 386-95.

Rode AV, Gamaly EG, Luther-Davies B. Subpicosecond laser ablation of dental enamel. *J Appl Phys.* 2002; 92(4): 2153-8.

Rupprecht S, Tangermann K, Kessler P, Neukam FW, Wiltfang J. Er:YAG laser osteotomy directed by sensor controlled systems. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003; 31: 337-42.

Sabatini C. Effect of phosphoric acid etching on the shear bond strength of two self-etch adhesives. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21(1): 56-62.

Sallé B, Gobert O, Meynadier P, Perdrix M, Petite G, Semerok A. Femtosecond and picosecond laser microablation: ablation efficiency and laser microplasma expansion. *Appl Phys A.* 1999; 69: 381-3.

Sandford MA, Walsh LJ. Differential thermal effects of pulsed vs continuous CO₂ laser radiation on human molar teeth. *J Clinical Las Med Sur.* 1994; 12: 139-42.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater.* 1994; 10(4): 236-40.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res.* 1999; 78(4): 906-11.

Sarr M, Kane AW, Vreven J, Mine A, Van Landuyt KL, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B, De Munck J. Microtensile bond strength and interfacial characterization of 11 contemporary adhesives bonded to bur-cut dentin. *Oper Dent.* 2010; 35(1): 94-104.

Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Assessment of the quality of resin-dentin bonded interfaces: an AFM nano-indentation, μ TBS and confocal ultramorphology study. *Dent Mater.* 2012; 28(6): 622-31.

Schawlow AL, Townes H. Infrared and optical masers. *Phys Rev.* 1958; 112: 1940-9.

Schwarz F, Sculean A, Berakdar M, Georg T, Reich E, Becker J. Periodontal treatment with an Er:YAG laser or scaling and root planing. A 2 year follow up split mouth study. *J Periodontol.* 2003; 74: 590-6.

Schelle F, Polz S, Haloui H, Braun A, Dehn C, Frentzen M, Meister J. Ultrashort pulsed laser (USPL) application in dentistry: basic investigations of ablation rates and thresholds on oral hard tissue and restorative materials. *Lasers Med Sci.* 2013 [Epub ahead of print].

Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* 2000; 45: 355-61.

Schroeder HE. *Oral Structural Biology.* Nueva York: Medical Publishers; 1991.

Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J.* 1995; 28(3): 141-8.

Sensi LG, Marson FC, Belli R, Baratieri LN, Monteiro S. Interfacial morphology of self-etching adhesive systems in dentin. *Quintessence Int.* 2007; 38(2): 112-9.

Serafetinides AA, Khabbaz M, Makropoulou MI, Kar AK. Picosecond laser ablation of dentine in endodontics. *Lasers Med Sci.* 1999; 14: 168-174.

Serbin J, Bauer T, Fallnich C, Kasenbacher A, Arnold WH. Femtosecond lasers as novel tool in dental surgery. *Appl Surf Sci.* 2002; 197-198: 737-40.

Shawkat ES, Shortall AC, Addison O, Palin WM. Oxygen inhibition and incremental layer bond strengths of resin composites. *Dent Mater.* 2009; 25(11): 1338-46.

Shirani F, Birang R, Malekipur MR, Zeilabi A, Shahmoradi M, Kazemi S, Khazaei S. Adhesion to Er:YAG laser and bur prepared root and crown dentine. *Aust Dent J.* 2012; 57(2): 138-43.

Shirk MD, Molian PA. A review of ultrashort pulsed laser ablation of materials. *J Laser Appl.* 1998; 10(1): 18-28.

Shono Y, Ogawa T, Terashita M, Carvalho RM, Pashley EL, Pashley DH. Regional measurement of resin-dentin bonding as an array. *J Dent Res.* 1999; 78: 699–705.

Sliney DH, Trokel SL. *Medical Lasers and Their Safe Use.* New York: Springer; 1993.

Soares CJ, Soares PV, Santos-Filho PC, Armstrong SR. Microtensile specimen attachment and shape-finite element analysis. *J Dent Res.* 2008; 87(1): 89-93.

Srinivasan R, Sutcliffe E, Braren B. Ablation and etching of polymethylmethacrylate by very short (160 fs) ultraviolet (308 nm) laser pulses. *Appl Phys Lett.* 1987; 51: 1285.

Steen WM. *Laser material processing.* 2^a ed. London: Springer; 1998.

Stern RH, Sognaes RF. Laser beam effect on dental hard tissues. *J Dent Res.* 1964; 43: 873-6.

Stern D, Schoenlein RW, Puliafito CA, Dobi ET, Birngruber R, Fujimoto JG. Corneal ablation by nanosecond, picosecond, and femtosecond lasers at 532 and 625 nm. *Arch Ophthalmol.* 1989; 107(4): 587-92.

Strassl M, Wieger V, Winter E. Novel approach for dental hard tissue ablation by ultrashort laser pulses. *Trends Optics Photonics.* 2005; 98: 819-25.

Strickland D, Mourou, G. Compression of amplified chirped optical pulses. *Opt Commun.* 1985; 55: 447-9.

Stuart BC, Feit MD, Rubenchik AM, Shore BW, Perry MD. Laser-induced damage in dielectrics with nanosecond to subpicosecond pulses. *Phys Rev Lett.* 1995; 74(12): 2248-51.

Stuart BC, Feit MD, Herman S, Rubenchik AM, Shore BW, Perry M. Optical ablation by high-power short-pulse lasers. *J Opt Soc Am B.* 1996; 13(2): 459-68.

Suhm N, Gotz MH, Fischer JP, Loesel F, Schlegel W, Sturm V, Bille JF, Schroder R. Ablation of neural tissue by short-pulsed lasers-A technical report. *Acta Neurochir (Wien).* 1996; 138(3): 346-9.

Sulewski JG. Revisión Histórica de la Odontología de Láseres. En: Convissar RA. *Clínicas*

Odontológicas de Norteamérica. Láseres y amplificación de la luz en odontología. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2000. p. 781-817.

Sun YC, Vorobyev A, Li H, Guo CL, Lü PJ. Femtosecond pulsed laser ablation of dental hard tissues with numerical control: a roughness and morphology study. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2012; 18; 47(8): 486-9.

Tachibana A, Marques MM, Soler JM, Matos AB. Erbium, chromium:yttrium scandium gallium garnet laser for caries removal: influence on bonding of a self-etching adhesive system. *Lasers Med Sci.* 2008; 23: 435-41.

Tani C, Manabe A, Itoh K, Hisamitsu H, Wakumoto S. Contact angle of dentin bonding agents on the dentin surface. *Dent Mater J.* 1996; 15(1): 39-44.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SH. Structural evidence of a sealed tissue interface with a total-etch wet-bonding technique in vivo. *J Dent Res.* 1994; 73(3): 629-36.

Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *J Adhes Dent.* 2000; 2(2): 99-116.

Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater.* 2001; 17(4): 296-308.

Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent.* 2002; 30(7-8): 371-82.

Tian FC, Wang XY, Gao XJ. The durability of three self-etch adhesives bonded to dentin. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2013; 48(4): 244-7.

Tirlapur UK, Konig K. Targeted transfection by femtosecond laser light. *Nature.* 2002; 418: 290-1.

Titley K, Chernecky R, Chan A, Smith D. The composition and ultrastructure of resin tags in etched dentin. *Am J Dent.* 1995; 8(5): 224-30.

Toledano M, Osorio R, Perdigão J, Rosales JI, Thompson JY, Cabrerizo-Vilchez MA. Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J Biomed Mater Res.* 1999; 47(2): 198-203.

Toledano M, Osorio R, de Leonardi G, Rosales-Leal JI, Ceballos L, Cabrerizo-Vilchez MA. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent.* 2001; 14(4): 205-10.

Toledano M, Osorio R, Sánchez F, Osorio E. *Arte y Ciencia de los Materiales Dentales.* 2003a, Ediciones Avances Médico-Dentales, S.L. Madrid.

Toledano M, Osorio R, Ceballos L, Fuentes MV, Fernandes CA, Tay FR, Carvalho RM. Microtensile bond strength of several adhesive systems to different dentin depths. *Am J Dent.* 2003b; 16(5): 292-8.

Toledano M, Osorio R, Moreira MA, Cabrerizo-Vilchez MA, Gea P, Tay FR, Pashley DH. Effect of the hydration status of the smear layer on the wettability and bond strength of a self-etching primer to dentin. *Am J Dent.* 2004; 17(5): 310-4.

Toledano M, Osorio R, Albaladejo A, Aguilera FS, Tay FR, Ferrari M. Effect of cyclic loading on the microtensile bond strengths of total-etch and self-etch adhesives. *Oper Dent.* 2006; 31(1): 25-32.

Toledano M, Cabello I, Yamauti M, Giannini M, Aguilera FS, Osorio E, Osorio R. Resistance to degradation of resin-dentin bonds produced by one-step self-etch adhesives. *Microsc Microanal.* 2012a; 18(6): 1480-93.

Toledano M, Yamauti M, Osorio E, Monticelli F, Osorio R. Characterization of micro- and nanophase separation of dentin bonding agents by stereoscopy and atomic force microscopy. *Microsc Microanal.* 2012b; 18(2): 279-88.

Tsai PS, Friedman B, Ifarraguerri AI, Thompson BD, Lev-Ram V, Schaffer CB, Xiong Q, Tsien RY, Squier JA, Kleinfeld D. All-optical histology using ultrashort laser pulses. *Neuron.* 2003; 39: 27-41.

Tsai PS, Friedman B, Squier JA, Kleinfeld D. Ultrashort pulsed laser light: A cool tool for ultraprecise cutting of tissue and cells. *Opt Photonic News.* 2004; 14: 24-29.

Tsujimoto A, Iwasa M, Shimamura Y, Murayama R, Takamizawa T, Miyazaki M. Enamel bonding of single-step self-etch adhesives: influence of surface energy characteristics. *J Dent.* 2010; 38(2): 123-30.

Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009; 88(2): 558-78.

Vanajasan PP, Dhakshinamoorthy M, Rao CS. Factors affecting the bond strength of self-etch adhesives: A meta-analysis of literature. *J Conserv Dent.* 2011; 14(1): 62-7.

Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent.* 2009; 11(3): 175-90.

Van Landuyt KL, Peumans M, De Munck J, Cardoso MV, Ermis B, Van Meerbeek B. Three-year clinical performance of a HEMA-free one-step self-etch adhesive in non-carious cervical lesions. *Eur J Oral Sci.* 2011; 119(6): 511-6.

Van Landuyt KL, De Munck J, Ermis RB, Peumans M, Van Meerbeek B. Five-year clinical performance of a HEMA-free one-step self-etch adhesive in noncarious cervical lesions. *Clin Oral Investig.* 2013 [Epub ahead of print].

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

Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res.* 1993; 72(2): 495-501.

Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent.* 1998; 26(1): 1-20.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijai P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003a; 28: 215–35.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin:

current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003b; 28(3): 215-35.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010; 26(2): 100-21.

Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2011; 27(1): 17-28.

Varel H, Ashkenasi D, Rosenfeld A, Wähler M, Campbell EEB. Micromachining of quartz with ultrashort laser pulses. *Appl Phys A.* 1997; 65: 367-73.

Walter R, Feiring AE, Boushell LW, Braswell K, Bartholomew W, Chung Y, Phillips C, Pereira PN, Swift EJ Jr. One-year water sorption and solubility of "all-in-one" adhesives. *Braz Dent J.* 2013; 24(4): 344-8.

Watanabe W, Arakawa N, Matsunaga S, Higashi T, Fukui K, Isobe K, Itoh K. Femtosecond laser disruption of subcellular organelles in a living cell. *Opt Express.* 2004; 12: 4203-13.

Wieger V, Zoppel S, Wintner E. Ultrashort pulse laser osteotomy. *Laser Phys.* 2007; 17(4): 438-42.

Willms L, Herschel A, Niemz MH, Pioch T. Preparation of dental hard tissue with picosecond laser pulses. *Lasers Med Sci.* 1996; 11(1): 45-51.

Wu W, Nancollas GH. The relationship between surface free-energy and kinetics in the mineralization and demineralization of dental hard tissue. *Adv Dent Res.* 1997; 11(4): 566-75.

Yamamoto H, Ooya K. Potential of yttrium-aluminum-garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol.* 1974; 3(1): 7-15.

Yanik MF, Cinar H, Cinar HN, Chisholm AD, Jin Y, Ben-Yakar A. Functional regeneration after laser axotomy. *Nature.* 2004; 432: 822.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res.* 2004; 83(6): 454-8.

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

Zhang S, Chen T, Ge LH. Scanning electron microscopy was used to observe dentin morphology in primary and permanent teeth treated by erbium: yttrium-aluminum-garnet laser. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 2011; 43(5): 766-9.





ÍNDICE TEMÁTICO

A

Ablación, 30, 61, 65-69, 72, 73, 76, 79, 80, 83-87, 89-94, 101, 102, 128, 159-163, 165-168, 170-173, 179

Absorción, 54, 62-66, 73, 81-83, 94, 163

Ablación ultrarrápida, 72, 80, 85, 89, 159

Ácido ortofosfórico, 26, 28, 30, 42, 45, 51, 53, 56, 91, 92, 102, 127, 128, 160, 163, 172, 173, 179

Acondicionamiento, 25-27, 29, 30, 38, 45, 66, 91, 101, 102, 127, 170, 179

Adherente, 39, 44

Adhesión, 25, 27, 29, 30, 36, 38, 39, 42-45, 49, 51-57, 62, 69-71, 79, 87, 89, 91, 92, 95, 96, 101, 115, 116, 127, 128, 160-174

Adhesivo, 25-27, 29, 30, 36, 38, 39, 41, 43-57, 59, 70, 92, 94, 95, 97, 101, 102, 115-117, 159, 160, 163-171, 174, 179

All in one, 46, 47, 53, 169

Alternativa, 25, 30, 71, 91-93, 95, 159, 163, 174, 179

Amplificación regenerativa, 73, 74

Análisis morfológico, 27, 28, 88

Autograbador/es, 25, 29, 30, 45-47, 49-52, 54-56, 101, 165, 169, 174

B

Barrillo dentinario, 25, 29, 37, 38, 42, 44, 45, 47, 48, 52, 57, 67-69, 71, 91, 93, 101, 159, 160, 162, 167-169, 171, 173, 174

C

Capa híbrida, 43,44, 47, 48, 53, 69, 167, 169, 171-1713

Coefficiente de absorción, 64, 65, 73, 163

Composición química, 36, 93, 166, 167

CPA, 73, 74

D

Dentina, 25-27, 29, 30, 35-48,50, 52, 53-71, 87-95, 101, 102, 107, 115, 127, 128, 159-174,179

Deshidratación, 26, 95

Desmineralización, 45, 46, 52

Duración, 25, 42, 58, 59, 63, 65, 73, 81, 83, 107, 165, 168, 170

E

Efectos mecánicos, 25, 39, 91, 101, 159

Efectos térmicos, 25, 61, 67, 69, 90, 91, 93, 94, 101, 159, 162, 171

Eficacia adhesiva, 25-27, 29, 30, 49, 54, 55, 69, 101, 102, 159, 160, 164, 165, 168, 173, 174, 179

Electrón, 26, 64, 81, 83, 84

Emisión pulsada, 58, 63

Energía, 26, 27, 30, 39-41, 44, 58, 61, 63, 64, 66, 68, 69, 73-79, 80, 81, 83-87, 89, 91, 102, 127, 128, 161, 162, 165, 170-173, 179

Esmalte, 26, 41-46, 49-52, 55, 56, 57, 60, 61, 66, 68, 71, 90-94

Especímenes, 28, 70, 94-96, 115, 164

F

FDA, 62
Fibra óptica, 63, 77
Fisuras, 25, 29, 67, 68, 72, 93, 159, 162
Fresas, 101, 159
Fusión, 29, 44, 48, 64, 65, 67, 84, 107, 159, 166

G

Grabado total, 25-27, 29, 30 44, 47, 49-52, 55, 56, 70, 92, 101, 102, 115, 116, 127, 160, 163, 165, 166, 168-171, 174, 179
Grupo, 26-29, 44, 47, 53, 54, 57, 70, 74, 82, 83, 85, 86, 97, 107, 115, 116, 127, 165-167, 169, 171-173

H

Hidratados, 168
Hidroxiapatita, 35, 53, 65, 160, 171, 172
Humectancia, 40, 41

I

Inconvenientes, 25, 53, 54, 62, 66, 91, 95, 96, 101, 102, 159, 160, 164
Infrarrojo, 58, 63, 75
Instrumental rotatorio, 29, 67-69, 72, 91, 101, 107, 159, 160, 162, 168, 174
Intensidad, 61, 64, 77, 81, 82, 84, 86, 88, 163
Irradiación, 26, 30, 67-71, 92, 102, 107, 115, 116, 128, 159, 160, 165-168, 170-173, 179
Irregularidades, 39, 167, 173

L

Láser de Er:YAG, 26, 27, 30, 61-71, 73, 81, 90, 91, 97, 102, 115, 116, 165-168, 179
Láser de pulsos ultracortos, 88, 89
Láser de Ti:Zafiro, 25, 26, 27, 29, 30, 72, 73, 80, 89, 90, 93, 101, 102, 115, 160, 162, 165, 166, 170, 173, 174, 179
Longitud de onda, 58, 59, 62-66, 77, 79, 81, 88, 163, 170

M

Material, 159-161, 163
Medio activo, 58, 60, 63, 73
Microestructurado, 26, 30, 90, 102, 127, 166, 171, 179
Microestructuras, 79, 87, 88
Microscopía(o) electrónica(o), 26, 115, 127
Microscopio óptico, 26, 97
Molares, 26-28, 36, 97, 107, 115, 127, 160
Muestras, 26-28, 68, 79, 95, 107, 127, 161, 170, 173

O

Oscilador de Ti:Zafiro, 73, 75

P

Pieza de mano, 63, 64
Polimerización, 53, 54
Preparación cavitaria, 25-27, 38, 66, 68, 88, 90, 101, 107, 160

Procesado, 58, 66, 74, 75, 77-79, 82, 83, 85, 86, 88, 161, 172, 174

Pulsos, 25, 26, 58, 60, 61, 63, 64, 66, 72-77, 79, 80-84, 86-91, 93, 101, 102, 107, 159-163, 174

R

Radiación, 58-60, 64, 66-71, 81, 84, 92, 101, 163

Resina, 25-27, 29, 30, 38-45, 52-54, 57, 62, 69, 71, 97, 159, 160, 164-174, 179

S

Sistema adhesivo, 27, 41, 43, 44, 116, 165, 167, 174

Sistema de focalización, 77-79

Subgrupo, 27, 87, 115, 173

Superficie, 25, 27-29, 36-42, 44, 48, 52, 60-62, 64, 67-69, 71, 72, 78-82, 84, 85, 86-88, 91-93, 96, 97, 101, 102, 107, 115, 116, 127, 159-174

T

Tags de resina, 42, 44, 48, 172, 173

Tejidos duros dentales, 25, 61, 62, 65-68, 72, 94, 168

Tensión superficial, 40, 41

Test de microtensión (MTBS), 94-97, 127, 164, 167

Test de microcizalla (SBS), 94-96, 164

Ti:Zafiro, 25, 26, 27, 29, 30, 72, 73, 75, 80, 89, 90-93, 101, 102, 115, 160, 162, 165, 166, 169, 170, 173, 174, 179

Tipo de fallo, 29, 97, 164, 170, 173

Tratamiento láser, 27, 30, 172, 179

Turbina, 26, 29, 101, 102

Umbral, 81, 84, 86

V

Vaporización, 66, 84

Velocidad, 29, 83, 87, 94, 96, 161, 162, 165, 170