

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA MICROINFILTRAÇÃO E DA FLUORESCÊNCIA EM MARGENS DE RESTAURAÇÕES EM SUPERFÍCIE RADICULAR SUBMETIDAS AO TRATAMENTO MARGINAL COM LASER DE Nd:YAG

**Ana Paula Nocentini Semensato¹, Egberto Munin²,
Priscila C. S. Liporoni, Marcos Tadeu T. Pacheco**

¹ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento- IP&D Universidade do Vale do Paraíba Av: Shishima Hifumi 2911, Urbanova, cep:12244-000, São José dos Campos, SP, Brasil

Rua Dr. Jamil Cury 101, Vila Industrial, cep 12220-281 apnocentini@bol.com.br

² Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento- IP&D Universidade do Vale do Paraíba Av: Shishima Hifumi 2911, Urbanova, cep:12244-000, São José dos Campos, SP, Brasil, munin@univap.br

Palavras-chave: cimento, laser, microinfiltração, fluorescência.

Área do Conhecimento: IV Ciências da Saúde

Resumo: Um dos maiores problemas na Odontologia é a microinfiltração e formação de cárie secundária ao redor de restaurações, principalmente as confeccionadas com resina composta. Com o aumento da incidência de cárie radicular nos últimos anos, isto torna-se ainda mais problemático visto que o cimento é menos mineralizado que o esmalte dental. Por isso este estudo avaliou a microinfiltração em restaurações em superfície radicular e submetidas ao laser de Nd:YAG e avaliou se as medidas de fluorescência emitidas por tais amostras são sensíveis as alterações provocadas pelo laser e pelo processo de indução de cárie por ciclagem de pH. Foram utilizados 50 dentes humanos que receberam restaurações de resina composta em uma de suas raízes e foram divididos em: Grupo 1 (controle) – subgrupos Cm para análise da microinfiltração, C e CC para ciclagem de pH e medidas de fluorescência; Grupo 2 – Lm para análise da microinfiltração e L para ciclagem de pH e medidas de fluorescência. Pôde-se concluir que o laser aplicado nas margens das restaurações não alterou o processo de microinfiltração e as alterações produzidas pela irradiação das amostras com laser de Nd:YAG no complexo cimento-dentina foram possíveis de serem detectadas pela técnica de fluorescência induzida por laser, independente do processo de ciclagem de pH.

1. INTRODUÇÃO

Com o avançar da idade, ocorre uma recessão gengival fisiológica, expondo a raiz do dente ao meio bucal, predispondo à cárie radicular (HARA e SERRA, 2001).

O uso do laser, especificamente do laser de Nd:YAG, tem se mostrado como método alternativo para modificação estrutural do cimento aumentando sua resistência à cárie. MORLOCK et al. (1992) e TEWFIK et al. (1994) avaliaram os efeitos do Nd:YAG na superfície radicular e observaram que o laser provocou mudanças físicas no cimento caracterizadas por fusão e ressolidificação dos componentes minerais.

L'ASTORINA (1998) observou o fusionalmento do cimento promovendo obliteração dos canalículos dentinários aumentando a resistência à cárie.

Por outro lado o laser de Nd:YAG também tem sido utilizado em margens de restaurações de resina composta, visando diminuir a microinfiltração comum a esse tipo de restauração (NAVARRO et al., 2000). Isto porque as resinas sofrem contração de polimerização gerando microfendas na interface dente-restauração possibilitando passagem de fluídos da cavidade bucal para o interior do dente (TJAN e TAN, 1991;

BARATIERI et al., 2001; AMARAL et al., 2001).

Antigamente, para o diagnóstico de cárie primária ou secundária o cirurgião dentista dispunha somente da análise da textura e coloração do tecido e da radiografia. Atualmente o método de fluorescência tem sido amplamente utilizado em pesquisas de diagnóstico de cárie com bons resultados. Com o desenvolvimento de aparelhos específicos como o Diagnodent foi possível captar a luz emitida pelo tecido dental e correlacioná-la com grau de desenvolvimento de lesão presente (LENNON et al., 2002; TONIOLI et al., 2002; ATTRILL e ASHLEY, 2001).

Entretanto a maioria dos estudos nestes contextos de pesquisa encontrados na literatura verifica a ação do laser de Nd:YAG sobre a microinfiltração em restaurações com margens em esmalte dental, bem como estudam a fluorescência emitida por lesões nessa região. Por isso, os objetivos deste estudo foram avaliar a microinfiltração em restaurações confeccionadas em superfície radicular e submetidas ao tratamento com laser de Nd:YAG e avaliar se as medidas de fluorescência emitidas por tais amostras são sensíveis as alterações provocadas pelo laser e pelo processo de indução de cárie por ciclagem de pH.

2. METODOLOGIA

Foram selecionados 50 dentes terceiros molares humanos, erupcionados, recém-extraídos e sem qualquer restauração presente. Os dentes foram conservados em soro fisiológico 0,9 % e congelados a -10° C. Antes dos procedimentos restauradores, foram desinfetados com formol a 2%, limpos com curetas periodontais nº 7/8 (Duflex), e polidos com pedra-pomes (S.S.White) e escova de Robinson (Viking – KG Sorensen Ind. e Com. Ltda.) em baixa rotação utilizando-se micro-motor e contra-ângulo (Dabi Atlante- Motor N-270). Em seguida os dentes foram esterilizados em autoclave (Phoenix - Marconi) a uma temperatura de 121°C por 15 minutos em potes de vidro

individuais contendo soro fisiológico para que não ocasionasse trincas no cimento dental

Em cada uma das amostras foi realizado um preparo classe V com diâmetro de 2,0 mm de diâmetro e 1,5 mm de profundidade e margens localizadas totalmente em cimento dental, na superfície da raiz dental que se mostrou mais plana e espessa. Foram utilizadas pontas diamantadas especiais (KG Sorensen Ind. e Com. Ltda. – Ref. 2294) em caneta de alta rotação (Dabi Atlante- RS350), sob refrigeração de água/ar. As cavidades foram limpas com pedra-pomes, e escova de Robinson em baixa rotação utilizando-se micro-motor e contra-ângulo, e lavados com jatos de água/ar.

Cada cavidade foi condicionada com gel de ácido fosfórico 35% (3M) por 15 segundos em cimento e dentina, lavadas e secas com jatos de ar. Em seguida, foi aplicado o sistema adesivo Single Bond (3M), conforme recomendação do fabricante, e fotopolimerizado por 20 segundos com aparelho de luz halógena Degulux (Soft Start – Degussa), operando com 280 mW de potência. A resina composta (Filtek Z250, 3M) foi inserida na cavidade em um único incremento e a polimerização foi realizada por 40 segundos. As amostras foram então armazenadas em um recipiente plástico fechado contendo gaze úmida em estufa de cultura de microrganismos (Fanem Ltda-Modelo 502/2A Orion), a 37°C e umidade relativa 100% durante 24 horas. Após esse período foram feitos o acabamento e polimento com discos abrasivos de óxido de alumínio de granulação fina e ultrafina Soflex (3M), por 15 segundos cada disco em baixa rotação e sob refrigeração.

As amostras foram divididas de maneira aleatória em dois grupos como mostrado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Divisão das amostras em dois grupos.

GRUPO 1 (Controle)	GRUPO 2 (Irradiadas)
-----------------------	-------------------------

Número de dentes	30	20
Tratamento marginal das restaurações	Nenhum	Laser de Nd:YAG

As margens das restaurações das 20 amostras do grupo 2 foram irradiadas com laser de Nd:YAG (Spectra Physics – Quanta Ray), infravermelho, pulsado, com emissão no comprimento de onda de 1064 nm, taxa de repetição de 30 Hz, potência média de 1,5 W/cm² a 10 mJ por pulso.

Foi utilizada uma fibra óptica de 600 µm de diâmetro (Fiberguide Ind. – Superguide G fiber SFS 600/660T) dirigida perpendicularmente à superfície do dente, sem contato com a mesma. A distância entre a ponta da fibra e a superfície irradiada foi padronizada em 1mm, garantida por um suporte mecânico (NEWPORT) fixo à fibra e à bancada. As amostras foram fixadas em um suporte de cera utilidade (Polidental Ind. e Com. Ltda.) para possibilitar a varredura de toda a margem da restauração e a padronização da distância de cada amostra em relação à fibra óptica, conforme mostrado na figura 1. O tempo de irradiação foi de 30 segundos distribuídos em duas voltas de 15 segundos cada ao redor da restauração. Nenhum tipo de refrigeração foi utilizado durante a irradiação.

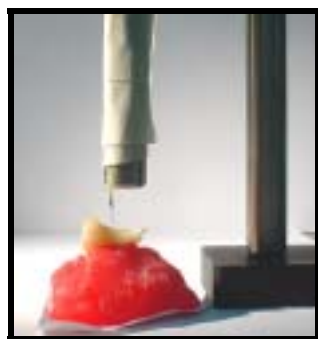


Figura 1: Amostra fixa ao suporte de cera e a 1mm de distância da fibra óptica

Após a irradiação, as amostras foram acondicionadas em duas embalagens de tule de cores diferentes para separar as amostras do grupo 1 (Controle) das do grupo 2

(Irradiadas), e foram termocicladas por 500 ciclos contínuos a 5 e 55° C por 1 minuto em cada banho.

Em seguida os dois grupos foram subdivididos da seguinte forma:

GRUPO 1 (Controle):

- Subgrupo Cm** constituído por 10 dentes onde será avaliada a microinfiltração;
- Subgrupo C:** também constituído por 10 dentes que serão submetidos à ciclagem de pH e medidas de fluorescência;
- Subgrupo CC:** 10 dentes não irradiados (controle) para as medidas de fluorescência.

GRUPO 2 (Irradiadas):

- Subgrupo Lm:** 10 dentes irradiados para avaliação da microinfiltração;
- Subgrupo L:** 10 dentes irradiados que serão submetidos à ciclagem de pH e medidas de fluorescência.

2.1. Ensaio da deposição do corante

As amostras pertencentes às subdivisões Cm e Lm tiveram os ápices radiculares vedados com uma pequena porção de resina Durepoxi (Alba Adesivos Indústrias e Comércio Ltda.). A restauração e 1 mm aquém da margem da mesma foram cobertas com um pedaço circular de fita adesiva (3M) de 4 mm de diâmetro visando isolá-la das duas camadas de esmalte de unhas colorido (Colorama) que a amostra recebeu posteriormente. Duas camadas de esmalte de cor marrom foram passadas nas amostras do subgrupo Cm e duas de esmalte de cor vermelho foram passadas nas amostras do subgrupo Lm. Aguardou-se 24 horas para a secagem do esmalte. A fita adesiva foi retirada e as amostras imersas em solução tamponada de azul de metileno 2% por 4 horas, e em seguida, lavadas e secas com papel absorvente.

Os dentes foram seccionados utilizando discos diamantados flexíveis dupla face (KG Sorensen Ind. E Com. Ltda. - Referência. 7020) montados em micro-motor e peça-reta. Cada amostra recebeu três cortes: o primeiro e o segundo para separar a

raiz que continha a restauração da coroa dental e das demais raízes; e o terceiro no sentido do longo eixo da raiz seccionada passando pelo centro da restauração.

Os fragmentos foram submetidos ao estereoscópio (Edmund Scientific), com aumento de 30X, associado a um sistema de vídeo-câmera e registrados no computador. Através do programa Leica Q-Win, foram registradas as imagens de todos os fragmentos analisados e realizadas as medidas em milímetros da profundidade das cavidades e da extensão da infiltração do corante em cada amostra (Owens 2002).

As medidas foram submetidas ao teste estatístico ANOVA e tiveram significância quando o nível de probabilidade foi menor que 0,05 ($p < 0,05$).

2.2-Procedimentos de ciclagem de pH

Das amostras dos subgrupos C e L foram obtidos os corpos-de-prova para indução artificial de cárie através da ciclagem de pH (FEATHERSTONE, 1986; SERRA e CURY, 1992; NOGUEIRA et al., 2001). O tamanho desses corpos-de-prova foi padronizado em 4 mm por 4 mm com a restauração no centro resultando em uma área exposta de 16 mm² para cada um dos corpos-de-prova. O corte foi confeccionado com os discos flexíveis dupla-face montados. Do subgrupo CC também foram obtidos corpos-de-prova com as mesmas dimensões para controle das medidas de fluorescência.

Em seguida, os corpos-de-prova do subgrupo C e subgrupo L foram fixados em cera e juntamente com os corpos de prova do subgrupo CC foram colocados em potes plásticos individuais identificados.

A ciclagem de pH foi realizada nos grupos C e L utilizando-se o modelo de indução de cárie artificial através de soluções desmineralizante e remineralizante preconizado por FEATHERSTONE (1986) e adaptado por SERRA e CURY (1992). Os

corpos-de-prova foram submetidos a 8 ciclos de ciclagem de pH. O modelo de SERRA e CURY (1992) sugere 9 ciclos para indução de cárie em esmalte dental. Entretanto o referido estudo ocorreu em cimento dental o qual é menos mineralizado que o esmalte e por isso houve a necessidade de redução do número de ciclos para 8, estabelecidos através do estudo piloto. Cada ciclo correspondeu a 6 horas em solução desmineralizante e 18 horas em solução remineralizante, utilizando-se 24 ml de cada solução por corpo-de-prova e por ciclo. Durante os ciclos, os potes plásticos contendo os corpos-de-prova imersos nas referidas soluções foram mantidos em estufa de cultura a 37°C.

Após o término da ciclagem de pH, todos os corpos-de-prova foram submetidos aos procedimentos de medidas de fluorescência. Para isso foi utilizado um laser de Excimer com comprimento de onda de 308 nm e feixe incidindo sobre cada uma das amostras. A fluorescência emitida foi captada por uma fibra óptica de 600µm de diâmetro, transmitida a um espectrômetro (Oriel Instruments – modelo 77702, grade de difração de 300 linhas) e deste para o computador para visualização dos gráficos.

Os gráficos foram analisados no programa Origin observando-se o formato da curva espectral e os pontos de intensidade de fluorescência. Em seguida foram submetidos ao programa Instat para realização de estatística entre os grupos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise da microinfiltração

Apesar de se ter utilizado uma broca com *stop* para padronizar os preparos, pode ser observado uma variação na profundidade das cavidades, como mostrado na figura 2. Entretanto essa variação foi irrelevante, visto que a média foi de 1,55mm, ou seja, bem próxima da profundidade de 1,5 mm da ponta diamantada. Além disso, o desvio padrão foi de 0,10mm, menor que 10% da média.

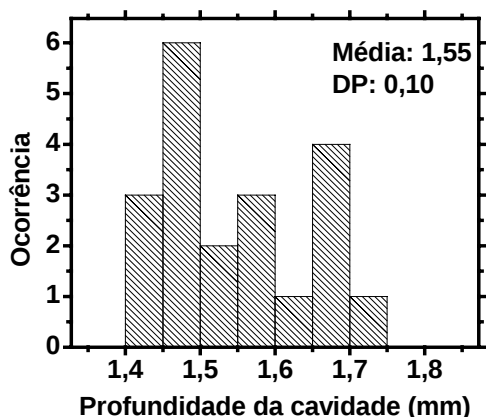


Figura 2: Variação da profundidade das classes V confeccionadas

Com relação à infiltração relativa média do corante nos dois grupos, obtida através da divisão da profundidade da infiltração pela profundidade da cavidade pôde-se observar que o grupo Lm (irradiadas) apresentou maior média de infiltração relativa (0,435 mm) em relação ao grupo Cm (0,375 mm). Através do teste estatístico ANOVA com nível de significância de 0,05 foi constatado que estas diferenças não foram estatisticamente significantes. Entretanto ao analisar a figura 3 observa-se que as amostras irradiadas tendem a migrar para regiões de maiores valores de infiltração relativa média enquanto que as amostras não irradiadas se concentram em regiões de menores valores. Ao realizar o teste ANOVA com nível de significância de 0,12, confirmou-se essa teoria pois as médias de infiltração relativa entre os dois grupos foram estatisticamente diferentes.

A tabela 2 resume os resultados retornados pelo teste ANOVA ao nível de significância de 0,05

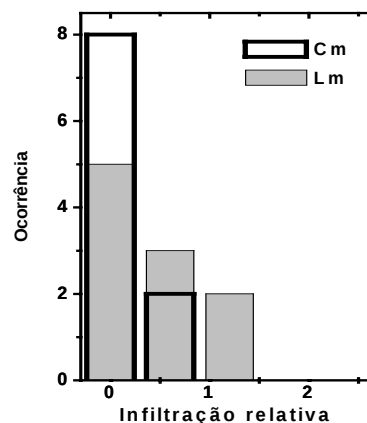


Figura 3: infiltração relativa média (em mm) em relação aos diferentes grupos

Tabela 2: Média e variância obtidos na análise estatística para os diferentes grupos.

Grupos	n	Média	Variância
Cm	10	0,212	0,02088
Lm	10	0,435	0,16538

Avaliação da fluorescência

Os espectros de fluorescência obtidos para os diversos grupos se apresentaram como emissões em banda larga, desprovidas de linhas espectrais estreitas.

A figura 4 ilustra os valores de intensidade de fluorescência obtidos para os diferentes grupos estudados. A figura mostra que a ciclagem de pH não produziu efeitos detectáveis na intensidade de fluorescência. Observa-se, entretanto, acentuado incremento na intensidade de fluorescência para o grupo submetido à radiação laser.

O tratamento estatístico para as medidas de fluorescência foi realizado através da análise de variância. O teste mostrou que a variação entre as médias para os diversos grupos é significativa.

O teste de Tukey-Kramer foi utilizado para múltiplas comparações entre os grupos, retornando como resultado, diferenças

estatisticamente significantes entre as médias para os grupos CC e L ($P < 0.05$) e entre as médias dos grupos C e L ($P < 0.05$). Não houve diferença estatisticamente significativa para o par de média referente aos grupos C e CC ao nível de significância de 0,05.

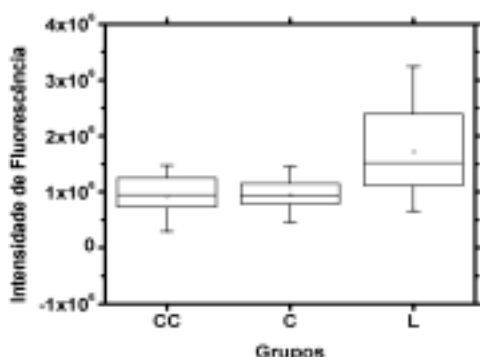


Figura 4: Intensidade de fluorescência para os grupos estudados.

A tabela 2 sintetiza os resultados retornados pela análise de variância.

Tabela 2: Análise de variância entre os diferentes grupos

Grupos	n	Média	Variância
CC	10	926398	393586
C	10	936890	320217
L	10	1718456	825644

4. CONCLUSÕES

O laser aplicado nas margens das restaurações não alterou o processo de microinfiltração, entretanto estudos utilizando um maior universo amostral estão em andamento para confirmação dos resultados.

As alterações produzidas pela irradiação das amostras com laser de Nd:YAG no complexo cimento-dentina foram possíveis de serem detectadas pela técnica de fluorescência induzida por laser

independente do processo de ciclagem de pH.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AMARAL, CM; HARA, AT; PIMENTA, AF; RODRIGUES JR, AL. Microleakage of hydrophilic adhesive systems in class V composite restorations. **Am. J. Dentistry**, v. 14, n. 1, 2001.
- 2- ATTRILL DC; ASHLEY PF, Occlusal caries detection in primary teeth: a comparison of DIAGNOdent with conventional methods. **Br Dent J**, v. 190(8), p.440-3, Apr. 2001.
- 3- BARATIERI, LN et al. **Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades**. 1 ed. São Paulo: Editora Santos/Quintessence, 2001. 739p.
- 4- FEATHERSTONE, JDB; O'REILLY, MM; SHARIATI, M; BRUGLER, S, **Enhancement of remineralization in vitro and in vivo**. In: LEACH, SA. **Factors relating to desmineralization and remineralization of teeth**. Oxford: IRL, 1986. p. 23-34.
- 5- GELSKEY, SC; WHITE, JM; GELSKEY, DE; KREMERS, W. Vapor emissions resulting from Nd:YAG laser interaction with tooth structure. **Dent. Mater.** v. 14, p. 453-457, 1998
- 6- HARA, AT; SERRA, MC. Cárie radicular: implicações do diagnóstico em seu tratamento. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v. 55, n. 2, p. 110-115. 2001.
- 7- L' ASTORINA, C. **Estudo in vitro do efeito do laser de Nd:YAG sobre o cimento dental humano: análise por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura**. São José dos Campos, 1998. 97 p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Campus São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho".
- 8- LENNON, MA, et al. Residual caries detection using visible fluorescence. **Caries Res.** v. 36, p. 315-316, 2002.

9- MORLOCK, BJ; PIPPIN, DJ; COBB, CM; KILLOY, WJ; RAPLEY, JW. The effect of Nd:YAG laser exposure on root surfaces when used adjunct to root planning: an *in vitro* study. **J. Periodontol.** , v. 63, p. 637-641, Jul. 1992.

10- NAVARRO, RS; ESTEVES, MSG; OLIVEIRA, WT; MATOS, AB; EDUARDO, CP; YOSSEF, MN; MATSON, E. Nd:YAG laser effects on the microleakage of composite resin restorations. Scanning electron microscopic study. **J. Clin. Laser Med. & Surg.**, v. 18, p. 75-79, 2000.

11- NOGUEIRA, EC; SERRA, MC; MORAIS, PMR; MARCHI, GM. Avaliação *in vitro* da ação cariostática de híbridos de ionômero de vidro/resina composta. **Rev. Paul. Odont.**, n. 3, p.30-33, Maio/Jun. 2001.

12- OWENS, BM, The effect of different drying methods for single step adhesive systems on microleakage of tooth colored restorations. **J. Contemp. Dent. Practice**, v. 15, n. 4, Nov. 2002

13- SERRA, MC; CURY, JA. The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restorations on enamel subjected to a desmineralization and remineralization model. **Quintessence Int.**, v. 23, n. 2, p. 143-147, Feb.1992.

14- TEWFIK, HM; GARNICK, JJ; SHUSTER, GS; SHARAMY, MM. Structural and functional changes of cementum surface following exposure to a modified Nd:YAG laser. **J. Periodontol.**, v. 65, n. 4, p. 297-302, Apr. 1994.

15- TJAN, AHL; TAN, DE. Microleakage of class V composite resin restorations rebonded with various low-viscosity resin systems. **Quintessence Int.** v. 22, n. 7, p. 565-571, 1991.

16- TONIOLI MB; BOUSCHLICHER MR; HILLIS SL. Laser fluorescence detection of occlusal caries. *Am J Dent*; v. 15(4), p. 268-73, Aug. 2002.