

## **“ANÁLISE QUANTITATIVA DO CONTEÚDO MINERAL DO ESMALTE ATRAVÉS DE MICROTOMOGRAFIA LABORATORIAL E MICRODUREZA KNOOP.”**

Marcelle Danelon, Alberto Carlos Botazzo Delbem, Ana Elisa de Mello Vieira, Kikue T. Sasaki, Mark Cannon, Stuart Stock. – **Sub-área** – Odontologia – Departamento de Odontologia Infantil e Social – Faculdade de Odontologia – Campus Araçatuba

A microtomografia de raios-X utilizando uma fonte laboratorial é uma adaptação da tomografia computadorizada original desenvolvida para diagnóstico médico. (ELLIOT et al., 1994) Na tomografia computadorizada, a estrutura interna de um espécime é reconstruída digitalmente de projeções registradas em diferentes direções. É uma promessa como método não destrutivo para a validação da presença e profundidade da desmineralização-remineralização dentária.

O propósito do presente estudo foi a avaliação da microtomografia laboratorial e microdureza knoop para quantificar o conteúdo mineral de esmalte bovino.

Blocos de esmalte (4x4 mm) foram obtidos de dentes incisivos bovinos estocados em solução de formol a 2% neutra durante 30 dias em temperatura ambiente. Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polido seqüencialmente permitindo a seleção de blocos através da determinação da microdureza de superfície (SMH inicial). A microdureza de superfície foi determinada (SMH inicial) utilizando-se o microdurômetro Shimadzu HMV-2000, sob carga de 25 gramas por 10 segundos. Foram realizadas cinco indentações eqüidistantes entre si. O delineamento experimental foi casualizado e os blocos divididos em sete grupos experimentais de doze espécimes cada um, de acordo com a média de dureza da população total de blocos e seu intervalo de confiança ( $p < 0,05$ ). Os blocos foram submetidos individualmente durante sete dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37° C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizante. (VIEIRA et al., 2005) O tratamento foi realizado duas vezes ao dia com dentifrício contendo 0 ppm (placebo), 275 ppm F, 550 ppm F, 1100 ppm F e dentifrício “Gold Standard” diluídos (1:3 – peso:peso) em água deionizada. Os blocos foram imersos sob agitação constante, durante um minuto, quando removidos das soluções desmineralizante (6 horas - Ca e P 2,0 mmol/L em tampão acetato 0,075 mol/L, 0,04 ppm F em pH 4,7 – 2,2 mL/mm<sup>2</sup>) e remineralizante (18 horas - Ca 1,5 mmol/L, P 0,9 mmol/L, KCl 0,15 mol/L em tampão cacodilato 0,02 mol/L, 0,05 ppm F em pH 7,0 – 1,1 mL/mm<sup>2</sup>). Os blocos foram lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções Des-Re e dentifrício/água deionizada.

Ao término, foi determinada novamente a SMH (SMH final) para cálculo da percentagem de variação da microdureza de superfície (%SMHC). Foram realizadas cinco indentações eqüidistantes entre si e, em relação à SMH inicial, 100 µm, sendo a percentagem de variação de microdureza de superfície (% SMHC) calculada [ $\%SMHC = ((SMH \text{ final} - SMH \text{ inicial}) / SMH \text{ inicial}) \times 100$ ].

Secções longitudinais foram feitas no centro dos blocos e uma das metades incluída em resina acrílica e polida. Uma seqüência de oito indentações a distâncias de 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm da superfície externa do esmalte foi realizada na região central dos blocos, e outras duas 100 µm acima e abaixo, sob carga de 15 gramas por 10 segundos. As médias foram calculadas em cada distância e os valores convertidos em conteúdo mineral (% vol. min.), de acordo com Featherstone et al. (1983). O cálculo da área integrada sob a curva (área formada entre os eixos “y”, “x” e curva do perfil de volume mineral), em percentagem de volume mineral x µm, foi obtido através da regra trapezoidal para os blocos tratados. A perda mineral ( $\Delta Z$ ), em % vol min x µm, foi obtida pela subtração da área integrada obtida para o bloco tratado daquela área integrada da projeção para o esmalte normal. (ARENDS; TEN BOSCH, 1992; ÖGAARD et al., 1988; SULLIVAN et al., 1995)

A seguir, quatro blocos de cada grupo foram submetidos à microtomografia laboratorial. Foi utilizado o sistema Scanco MicroCT-40, com o tubo de raio-X operado a 45 kVp com máxima sensibilidade (0,3 s/integração de projeção, 1000 projeções e 2048 amostras/projeção). A reconstrução foi realizada com 6 µm voxels isotrópicos.

Após captura, as imagens foram analisadas utilizando o Software Image J. Para tal, a imagem no formato RGB color foi convertida (barra de ferramenta: Image/type/8-bit) para 8-bit (grayscale). Foram

ajustados brilho e contraste da imagem (barra de ferramenta: Image/adjust/Brightness/Contrast/auto), definição (barra de ferramenta: Process/Sharpen) e fundo (barra de ferramenta: Process/ subtract background/100/white background). O posicionamento da imagem foi corrigido, seu tamanho aumentado para 200% e uma área selecionada para análise (barra de ferramenta: Analyze/Plot Profile). Seis áreas foram analisadas em cada imagem, correspondendo uma profundidade de 330  $\mu\text{m}$ . Valores voxels foram convertidos em conteúdo mineral (255 pixels = 100% do volume mineral). A área integrada foi calculada como descrito para a microdureza em secção longitudinal.

A média  $\pm$ dp da concentração de flúor total e iônico ( $\mu\text{g F/g}$ ) nos dentifrício placebo, 275, 550, 1100 e Crest™ foram, respectivamente:  $17,4 \pm 3,3$  e  $17,2 \pm 1,4$ ,  $235,9 \pm 12,2$  e  $235,8 \pm 9,6$ ,  $557,9 \pm 21,3$  e  $558,2 \pm 5,9$ ,  $1109,6 \pm 31,4$  e  $1105,8 \pm 11,1$ ,  $1223,8 \pm 22,0$  e  $1235,0 \pm 15,6$ . The mean value of SMH from all blocks was  $332,7 \pm 5,1$ . The mean from the treatment groups was set between  $329,9 \pm 2,5$  and  $336,7 \pm 5,6$ . No statistical differences were observed between them ( $p > 0,05$ ).

O aumento na concentração de flúor nas soluções proporcionou uma menor perda mineral superficial (%SMH), na área mineral da lesão ( $\Delta Z$ ) em termos de % volume mineral e microtomografia laboratorial. A correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) foi utilizada para determinar a relação entre os diferentes métodos de análise e dose-resposta entre os tratamentos.

Observou-se correlação negativa entre concentração de flúor nos dentifrícios com os resultados de % volume mineral ( $r = -0,9951$ ;  $p = 0,0000001$ ) e microtomografia laboratorial ( $r = -0,9817$ ;  $p = 0,0010$ ). Correlação positiva foi observada entre a concentração de flúor e %SMH ( $r = 0,9785$ ;  $p = 0,00280$ ). A análise entre as variáveis mostrou correlação positiva entre os dados de % volume mineral e microtomografia laboratorial ( $r = 0,9855$ ;  $p = 0,00020$ ). Correlação negativa foi encontrada entre %SMH quando comparada a % volume mineral ( $r = -0,9916$ ;  $p = 0,0000001$ ) e microtomografia laboratorial ( $r = -0,9923$ ;  $p = 0,0000001$ ).

Apesar de ambos os métodos de análise apresentar capacidade de verificar relação dose-resposta entre os tratamentos, a microtomografia laboratorial propiciou a determinação da perda mineral com uma precisão mais adequada.

## Referências

ARENDS, J.; TEN BOSCH, J. J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. **J. Dent. Res.**, v.71, p. 924-928, 1992.

ELLIOT, J. C.; ANDERSON, P.; GAO, X. J.; WONG, F. S. L.; DAVIS, G. R.; DOWKER, S. E. P. Application of scanning microradiography and S-Ray microtomography to studies of bones and teeth. **J. X-Ray Scienc.Technol.**, v.4, p. 102-117, 1994.

FEATHERSTONE, J. D. B.; TEN CATE, J. M.; SHARIATI, M.; ARENDS, J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.**, v. 17, n. 5, p. 385-391, 1983.

ÖGAARD, B.; ROLLA, G.; ARENDS, J. *In vivo* progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. **Caries Res.**; v. 22, p. 302-305, 1988.

SULLIVAN, R. J.; FLETCHER, R.; BACHIMAN, R.; PENUGONDA, B.; LEGEROS, R. Z. Intra-oral comparison and evaluation of the ability of fluoride dentifrices to promote the mineralization of caries-like lesions in dentin and enamel. **J. Clin. Dent.**, v.6, p. 135-138, 1995.

VIEIRA, A. E. M.; DELBEM, A. C. B.; SASSAKI, K. T.; RODRIGUES, E.; CURY, J. A.; CUNHA, R. F. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. **Caries Res.**, v. 39, p. 514-520, 2005.