AGENOR MONTEBELO FILHO

AVALIAÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO DENTAL PARA PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO ATRAVÉS DO MÉTODO RADIOGRÁFICO

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO CARLOS FERRAZ CORRÊA

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Mestre em Biologia e Patologia Buco-Dental.

PIRACICABA - S. P.
1985

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À VERA,

minha esposa,

pela compreensão e abnegação,

Aos meus filhos,

CAMILA e VITOR,

pelo estímulo que para mim representam,

dedico este trabalho.

Ao Professor Doutor

NIVALDO GONÇALVES

a quem devemos o ingresso na carreira universitária, nosso respeito e admiração, agradecendo pela confiança e estímulo que nos tem dedicado.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor JOSÉ ARISTODEMO PINOTTI
Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, nossa respeitosa homenagem.

Ao Professor Doutor LUIZ VALDRIGHI
Diretor desta Faculdade, pelo apoio que nos deu durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Doutor SIMONIDES CONSANI
Diretor Associado desta Faculdade, pelo interesse e solícita atenção.

Ao Professor Doutor MÁRIO ROBERTO VIZIOLI
pelo estímulo e interesse demonstrados e valiosa colaboração durante a elaboração deste trabalho.

Ao Professor Doutor ANTONIO CARLOS FERRAZ CORRÊA
pela orientação, colaboração e cessão das dependências e aparelhagem de foto densitometria.

Ao Professor Doutor FRAB NORBERTO BÓSCOLO
pela troca de informações preciosas, durante a elaboração deste trabalho.

À Professora Doutora SÔNIA VIEIRA
pelas sugestões seguras na confecção dos gráficos deste trabalho.

À Bibliotecária IVANY DO CARMO GUIDOLIM GEROLA
pela gentil colaboração, relativa às referências bibliográficas.

Aos Senhores MOACYR RANGEL PEETZ, MARIA APARECIDA RIVA, RUBENS PAYÃO, SUELI LOYOLA, ANTONIO KERCHES DE CAMPOS e ADÁRIO CANGIANI, funcionários desta Faculdade, pela colaboração efetiva durante a obtenção do material para este trabalho.

Í N D I C E

p.

Capítulo I

INTRODUÇÃO 1

Capítulo II

REVISÃO DA LITERATURA 4

Capítulo III

PROPOSIÇÃO 12

Capítulo IV

MATERIAIS E MÉTODOS 14

Capítulo V

RESULTADOS 20

Capítulo VI

DISCUSSÃO 31

p.

Capítulo VII

CONCLUSÃO 40

Capítulo VIII

RESUMO 42

Capítulo IX

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 45

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Nos estudos levados a efeito sobre as estruturas que formam os dentes, os pesquisadores defrontam-se com um problema básico, decorrente do fato de essas estruturas serem constituídas tanto por substâncias inorgânicas, duras e de natureza mineral, como por substâncias orgânicas, que formam a estrutura da polpa dental. É óbvio que estes componentes se comportam diferentemente, quando colocados sob a ação de agentes desmineralizadores.

O procedimento normal, quando se objetiva a investigação das substâncias inorgânicas, é praticar-se a incineração do dente ou o seu desgaste mecânico, ao passo que, quando se deseja estudar as substâncias orgânicas e suas relações com as estruturas duras, promove-se a eliminação prévia das substâncias mineralizadas, a fim de facilitar a microtomia do material, para posterior exame.

Uma grande preocupação dos pesquisadores, em relação aos tecidos mineralizados, é, sem dúvida, a problemática que advém da sua desmineralização. É uma preocupação antiga e que persiste até os nossos dias, tornando-se ainda mais importante com o advento da histoquímica e da microscopia eletrônica.

Nas últimas décadas, os pesquisadores, estudando os tecidos mineralizados, sentiram a necessidade de aprofundar as suas observações no que tange à ação dos agentes desmi

neralizantes sobre esses tecidos, visto que tal ação produzia frequentemente alterações estruturais do tecido, prejudicando desta forma os resultados.

Assim, tornou-se cada vez mais evidente a importância da escolha da solução desmineralizadora, em função do tecido a ser desmineralizado e também do que se pretende estudar. Evidentemente, o fator relacionado ao tempo de atuação desses agentes desmineralizantes é outra questão de grande relevância.

Numerosos métodos têm sido introduzidos para se obter a desmineralização dos tecidos duros, objetivando estudos histológicos e histoquímicos. Entretanto, verifica-se que pouquíssimos pesquisadores referem-se ao emprego da radiografia para propiciar uma avaliação da ação do desmineralizador sobre a estrutura focalizada, no caso de estudos sobre ossos. Quanto às pesquisas sobre tecidos dentários, conseguimos encontrar poucos relatos sobre processos de desmineralização controlados radiograficamente, sendo que nenhum deles trabalhou com dentes isolados (íntegros), nem com aparelhagem que permitisse a obtenção de dados numéricos avaliadores da marcha do processo.

Capítulo II

REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

Revisando a bibliografia disponível, relativa ao assunto proposto, constatou-se que, já nas décadas de vinte e trinta, autores como BUNTING & PALMERLEE[5], DOBBS[6], BENEDICT & KANTHAK[2], FORBES[8], KARSHAN & ROSEBURY[10], viram a necessidade de estudar mais detidamente o comportamento das estruturas mineralizadas, frente à ação dos agentes desmineralizadores, pois estes podem provocar o comprometimento do tecido estudado.

Em 1932, BENEDICT & KANTHAK[2] desenvolveram um estudo da influência do pH na dissolução do esmalte dental humano, onde mostraram que a relação entre cálcio e fosfato, presentes no esmalte dentário, não corresponde exatamente ao fosfato de cálcio, mas sugerem a existência de um sal mais complexo e, também, que o esmalte seria dissolvido na saliva se não fosse a ação protetora exercida pelos íons Ca^{++} e P^{+}.

Em 1937, WILLMAN[19] pesquisou a ação do ácido nítrico a 5% em mandíbulas humanas de recém-nascidos, passando por várias idades, até adultos, mandíbulas de animais e dentes humanos isolados. O autor utilizou uma cuba com volume ao redor de cinco litros e colocou todo o material a ser desmineralizado junto, mas não citou a quantidade de cada ítem. Com os dentes, também não descreveu que grupo dental utilizou e mostrou que a desmineralização completa dos mesmos ocorre entre sete e nove dias. Afirmou, também, que o volume do espécime a ser desmineralizado tem relação com o tempo de duração da des

mineralização, como também pode se prolongar, se a solução estiver saturada.

Em 1940, VOLKER[18] fez um estudo da solubilidade dos diferentes tipos de esmalte humano e concluiu que o esmalte do dente decíduo é mais solúvel que o do dente permanente e, por sua vez, esses não mostraram diferenças consideráveis em relação ao esmalte de dentes jovens, embora dados experimentais sugerissem alguma diminuição dessa solubilidade com o avançar da idade. Também afirmou que o esmalte de dentes não irrompidos apresentou uma solubilidade aos ácidos semelhante aos dos dentes já irrompidos.

Em 1945, MORSE[13] pesquisou a desmineralização em dentes humanos e mandíbulas de animais, com ácido fórmico citrato sódico, até que o teste químico para a presença de mineralização se mostrasse negativo. O autor concluiu que o tempo requerido para desmineralizar os tecidos variou com o tamanho e volume dos mesmos, concordando com WILLMAN[19].

Em 1953, NIKIFORUK & SREEBNY[14] chamaram a atenção para os métodos propostos para desmineralizar tecidos duros, com o objetivo de se fazerem estudos histológicos e histoquímicos. Estudaram o uso do EDTA - etileno diamino tetracetato dissódico - como um método de desmineralização de tecidos duros, que, ao contrário do que era habitual, faz-se com índices de pH elevados, portanto, sem necessidade de sujeitar as amostras do tecido a um pH ácido. Quanto à rapidez, indicaram que o EDTA atua bem mais lentamente, apenas com um sétimo da velocidade obtida com o uso das soluções ácidas (ácido nítrico a 5%, ácido

fórmico citrato sódico e citrato de magnésio), nas pequenas amostras de tecido, no caso mandíbulas de rato. Contudo, salientaram que essa velocidade pode ser bastante aumentada com emprego de elevadas temperaturas e que, de qualquer modo, tal atuação é sete vezes mais rápida do que a conseguida pela ação da solução de citrato de magnésio, que tem pH neutro. Para acompanhar a taxa de desmineralização, os autores utilizaram radiografias, tomadas em diferentes intervalos de tempos. A ausência de radiopacidade foi utilizada como evidência da completa desmineralização e, segundo os mesmos, mostrou-se satisfatória.

Em 1966, FERRAZ CORRÊA & MERZEL[7] compararam a ação de vários desmineralizadores e fixadores sobre os tecidos desmineralizados de incisivos de ratos albinos. Para tanto, usaram nove tipos de desmineralizadores (ácido nítrico a 5%, ácido tricloroacético a 5%, ácido fórmico a 33%, fluidos de Jenkin's, Greep's, Hilleman e Lee's, Freiman, e tampão ácido cítrico pH 4,5). Cada uma dessas soluções foi usada nas seguintes temperaturas: 4°C, ambiente (25°C) e 37°C. Os dentes foram examinados duas vezes por dia e considerou-se atingido o final do processo quando se tornavam completamente amolecidos.

Um ano após, em 1967, BRAIN[4] estudou um método para rápida desmineralização do esmalte dental e estruturas associadas, com a finalidade de utilização em microscopia. O autor concluiu que a desmineralização pode ser obtida em um tempo reduzido, utilizando-se ácido fórmico e solução de fosfato de cálcio; contudo, os "cortes" não deveriam ultrapassar 3 mm

de espessura, para que a desmineralização ocorresse em um tempo inferior a 21 dias.

Ainda em 1967, SHIBATA[18] fez um estudo para avaliar a ação de dois desmineralizadores (ácido fórmico citrato sódico e etileno diamino tetracetato dissódico - EDTA), usando mandíbulas de ratos. A aplicação de testes subjetivos, tais como, corte com lâmina de barbear, perfuração com instrumento pontiagudo, ou encurvamento manual da mandíbula, mostrou que os espécimes de 17 e 21 dias comportaram-se de maneira semelhante entre si; contudo, os testes radiográficos mostraram diferenças de radiopacidade entre os dois grupos, tendo o teste químico demonstrado que as mandíbulas com 17 dias de tratamento indicavam desmineralização completa.

BERGMAN & LINDEN[3], em 1970, fizeram estudos, por meio de microrradiografias, das condições de desmineralizações do esmalte dental humano "in vitro". O método microrradiográfico baseou-se na exposição de finas fatias de dentes desgastados a radiações de baixo potencial, com comprimento de ondas grandes, as chamadas radiações X moles. Serve para estudar esmalte, dentina, cemento e diferentes aparências de lesões que afetam os tecidos dentais, pois permitem a observação das áreas desmineralizadas com bastante precisão e detalhes, como indica FREITAS[9]. Os autores colocaram fatias de dentes desgastados em contato com uma solução desmineralizadora de acetato tamponado 0,1M pH 4,5, e a dentina em contato com soluções de fosfato de cálcio e fluoreto de potássio, com pH 7,0. Concluiram, então, entre outras coisas, que a taxa de desmineralização di

minuia com a aplicação de "soluções internas".

Ainda em 1970, WINKLER e colaboradores[20] fizeram um estudo, onde demonstraram o sucesso do método radiográfico no controle da desmineralização de estruturas mineralizadas. Salientaram os autores que a escolha da solução desmineralizadora depende do tecido a ser desmineralizado e do que se pretende estudar, pois as ações desses agentes são distintas, uns preservam os tecidos para detalhes histológicos, outros preservam a atividade enzimática e outros, ainda, mantêm bons detalhes morfológicos. Nesta pesquisa, WINKLER e colaboradores[20] utilizaram a metade de uma mandíbula completa, que, após ser radiografada, foi mergulhada em ácido clorídrico a 5%, sob agitação contínua. Posteriormente, esse material foi sendo radiografado após 8, 10, 12, 13 e 14 dias da imersão, sendo que no décimo quarto dia, a imagem radiográfica, examinada visualmente, sugeriu uma desmineralização completa. De posse desses resultados, os autores promoveram a lavagem, desidratação, inclusão da peça em parafina e cortes histológicos, cujo resultado mostrou áreas com tão pouca mineralização que não chegava a danificar a navalha do micrótomo.

Em 1971, ÁLVARES[1], trabalhando com amostras de fêmures de ratos albinos em pesquisa histoquímica, tentou estabelecer, dentre uma série de agentes desmineralizadores, comumente utilizados em laboratório de histologia e histopatologia, aquele que fornecesse os melhores resultados quanto ao tempo de ação, integridade das estruturas não mineralizadas e, sobretudo, melhor preservação dos espécimes. O autor acompanhou a

ação desses agentes com o uso de radiografias, obtidas diariamente, e analisou o resultado das imagens, com o emprego de coloração feita com tricômico de Mallory e hematoxilina e eosina. Com base nos resultados, o autor concluiu que:

1. O melhor desmineralizador encontrado foi etileno diamino tetracetato dissódico - EDTA, pois apresentou a melhor preservação estrutural e o melhor quadro de reações histoquímicas.

2. Como segunda alternativa e, sobretudo, para trabalhos de rotina em histologia e histopatologia, estava indicado o ácido fórmico.

3. Nos casos em que se deseja uma desmineralização muito rápida, não sendo necessária uma preservação estrutural e nem posterior aplicação de métodos histoquímicos, estaria indicado o uso do ácido nítrico.

Em 1975, VALDRIGHI & PUPO[17] fizeram um estudo do uso do ácido etileno diamino tetracetato dissódico - EDTA - na desmineralização de dentes humanos. Os autores trabalharam com quatro soluções, sendo duas comerciais para uso endodôntico: uma a 10%, pH 9,0 e outra a 10%, pH 9,7; uma terceira solução, preparada a 10%, pH 7,0; e, finalmente, a quarta solução, preparada a 20%, com pH 7,0. Neste estudo, foram usados dentes humanos, extraídos de pacientes na faixa etária entre 25 e 30 anos. Cada dente foi seccionado em 4 fatias de 1,5 mm de espessura. Em seguida, cada fatia de cada dente foi colocada em um frasco contendo uma das soluções acima referidas, sendo tal solução renovada diariamente, para prevenir uma eventual saturação. A efi

ciência das soluções desmineralizadoras foi testada através da visualização das imagens radiográficas, tomadas após 6, 11, 24, 72, 144 e 288 horas após a imersão das peças. Os resultados mostraram diferenças marcantes no poder desmineralizante das diferentes soluções testadas. A solução a 20%, pH 7,0, foi a que se revelou mais eficiente, seguida da solução a 10%, pH 7,0. A solução comercial a 10%, pH 9,7, foi a menos eficiente. Com isso, concluiram os autores que a concentração e o pH influiram na taxa de desmineralização dos quelantes.

Capítulo III

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

Considerando-se a conveniência de um método simples para avaliação do grau de desmineralização do tecido duro do dente, propõe-se:

1. A avaliação da eficiência do emprego da radiografia, no controle do grau de desmineralização do tecido duro do dente, através de comparação de leituras das imagens radiográficas, pelo emprego do fotodensitômetro.

2. A avaliação das diferentes intensidades de ação de algumas substâncias desmineralizantes, mais utilizadas em laboratório, sobre os tecidos inorgânicos dos diferentes grupos de dentes humanos.

Capítulo IV

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste experimento, foram usados 45 dentes recém-extraídos nas clínicas dentárias da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, sendo provenientes de pacientes na faixa etária de 25 a 30 anos. Foram selecionados com a finalidade de obtermos espécimes onde tanto a coroa como a raiz estivessem íntegras. Esse material foi dividido em nove grupos de cinco dentes diferentes cada, da seguinte maneira: incisivos centrais superiores (ICS), incisivos laterais superiores (ILS), caninos superiores (CS), pré-molares superiores (PMS), molares superiores (MS), incisivos inferiores (II), caninos inferiores (CI), pré-molares inferiores (PMI), molares inferiores (MI).

Imediatamente após as extrações, os dentes foram colocados em frascos individuais, padronizados, com capacidade de 25 ml, contendo uma solução fixadora de formol salino a 10%, por 48 horas. Após esse tempo, as soluções fixadoras foram trocadas por igual volume de soro fisiológico, onde os dentes permaneceram até 60 dias, quando se iniciou a fase seguinte. Durante esse tempo, os dentes foram raspados com instrumentos de periodontia para a eliminação de cálculos salivares, fibras periodontais e pequenos fragmentos de osso alveolar eventualmente aderidos aos mesmos. A seguir, foi praticada a profilaxia final, empregando-se motor de baixa rotação com taça de borracha e pasta profilática*, com a finalidade de remover ou-

* "Odhocom - Herpe Produtos Dentários, Rio de Janeiro.

tras substâncias, eventualmente mais fortemente aderidas aos dentes, que pudessem dificultar a ação das soluções desmineralizantes.

Com os dentes assim preparados, foram efetuadas medidas nas regiões da raiz e da coroa. Na região da coroa, mediram-se a altura da mesma e as larguras da região do terço mediano ou equatorial, e região cervical. Na região da raiz, mediram-se a distância da região cervical do ápice e a largura do terço médio, utilizando-se para isso um paquímetro. A finalidade da tomada dessas medidas foi conseguirem-se elementos dentais com formas e dimensões sensivelmente iguais, em seus respectivos grupos, tolerando-se variações até cerca de 1 mm nas dimensões homólogas.

Em seguida, foram tiradas radiografias de cada um dos dentes, para obtenção de uma imagem radiográfica inicial. Essas radiografias foram obtidas, utilizando-se um aparelho GE 1000, onde foi adaptado um colimador metálico especial, idealizado pela disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, com 20 mm de diâmetro e de 110 mm de comprimento (fotos nº 1 e 2), operando com 10 mA, 65 kVp, com tempo de exposição de 2 impulsos (0,03 seg.). Para a obtenção de radiografias com os dentes sempre na mesma posição, utilizou-se uma placa de cera rosa de 1 mm de espessura, na qual o dente íntegro era comprimido, deixando o seu formato. Para cada dente foi feita esta operação, de modo que ao final tinha-se 45 placas. Também nessas placas foram fixadas pequenas esferas de chumbo, de 1 mm de diâmetro (fotos nº 3, 4 e 5), com

a finalidade de demarcar, com sua imagem, a região medida, e dar uma orientação segura durante a leitura do fotodensitômetro, visto que, durante o processo de desmineralização, ocorre perda da morfologia normal. As esferas foram colocadas na altura da borda oclusal e incisal (R_1), terço mediano da coroa (R_2), colo cervical da coroa (R_3) e terço médio da raiz (R_4).

Para o presente trabalho, foram empregados cinco tipos diferentes de agentes desmineralizadores, com as seguintes características químicas:

(1) Ácido Tricloroacético a 5% (LANGERON, 1949):

Ácido Tricloroacético	50 ml
Água Destilada	950 ml

(2) Ácido Fórmico a 33% (LANGERON, 1949):

Ácido Fórmico	330 ml
Água Destilada	670 ml

(3) Tampão Citrato (McMANUS & MOWRY, 1960):

Ácido Cítrico	14,7 g
NaOH 0,2N	700 ml
HCL 0,1N	300 ml
Sulfato de Zinco 1%	2 ml
Clorofórmio	1 ml

(4) EDTA (etileno diamino tetracetato dissódico) |FREIMAN| (PEARSE, 1960):

Solução de EDTA a 5%, tamponado a pH 7,0 com hidróxido de

sódio a 40%.

(5) Ácido Nítrico a 5% (LANGERON, 1949):

Ácido Nítrico concentrado ..... 50 ml

Água Destilada ..... 950 ml

Como havia cinco grupos de dentes, cada grupo contendo um exemplar de cada tipo (ICS, ILS, CS, PMS, MS, II, CI, PMI, MI), tratou-se cada um desses grupos com um dos cinco agentes desmineralizadores, o que possibilitou comparar a ação destes desmineralizadores sobre cada tipo de dente.

Como os dentes já estavam em frascos individuais, imersos em soro fisiológico, procedeu-se simplesmente à troca deste líquido pela solução desmineralizante determinada para cada grupo.

Com os grupos de dentes imersos nas respectivas soluções, passou-se ao controle da desmineralização, por meio de imagens radiográficas, em tempos sucessivos a cada 24 horas. A cada 48 horas, os desmineralizadores eram substituídos por idêntica solução nova, evitando dessa maneira a sua saturação.

Uma vez completadas as desmineralizações, as soluções foram então removidas dos frascos e os dentes lavados em água destilada, bloqueando assim a eventual continuação do processo.

O grau de desmineralização dos dentes e, conseqüentemente, o poder de ação dos desmineralizantes, foram avaliados através das imagens radiográficas. Para evitar eventuais

variações durante a fase de processamento, optou-se por um processamento de todas as radiografias, tiradas durante a desmineralização, em uma única operação.

O revelador utilizado foi da marca Kodak, preparado conforme as suas especificações. A temperatura do banho foi padronizada para 20°C. O processamento seguiu a metodologia convencional: revelação durante 2 minutos, lavagem intermediária com movimentos contínuos por 30 segundos, fixação por 20 minutos, lavagem final por 30 minutos em água corrente, e, finalmente, a secagem em secadeira de uso habitual em laboratório radiológico. Durante o processamento, os tempos foram medidos com um cronômetro de precisão, marca Mentor.

Finalmente, procedeu-se à leitura das imagens radiográficas e, consequentemente, determinação do grau de desmineralização. Para esta operação, realizou-se previamente a calibração do aparelho, utilizando-se um filme radiográfico do mesmo lote que os demais usados nesta pesquisa, porém não o expondo à radiação. Tal filme de controle foi posteriormente processado em conjunto com todos os outros empregados durante a pesquisa, e assim pode servir de padrão. O aparelho utilizado para a determinação do grau de desmineralização foi um Fotomicroscópio II "CARLS ZEISS" (Oberkochen), acoplado a um fotômetro 01 e a um fotomultiplicador digital RCA 1 Pa 8 "CARLS ZEISS".

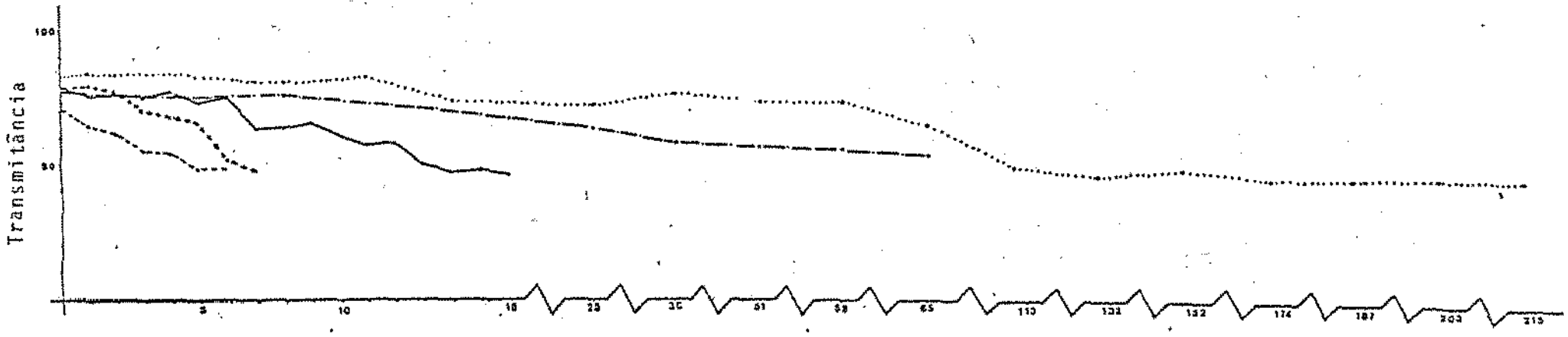
Capítulo V

RESULTADOS

RESULTADOS

Os resultados do presente trabalho constam dos gráficos indicativos da velocidade de desmineralização dos grupos dentais, numerados de 1 a 9.

Gráfico 01

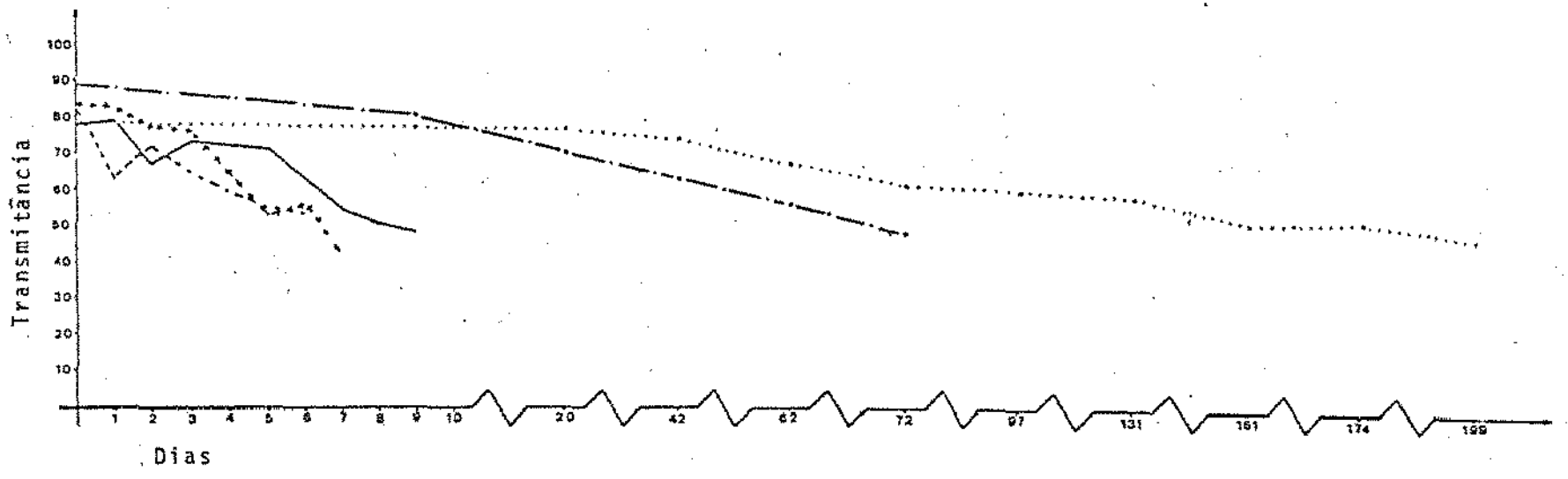


INCISIVO CENTRAL SUPERIOR

DESMINERALIZADORES

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————)
2 - Ácido Fórmico 33% (--------)
3 - E.D.T.A. (·-·-·-·-·-)
4 - Tampão Citrato (·····)
5 - Ácido Nítrico 5% (+++++++++)

Gráfico 02

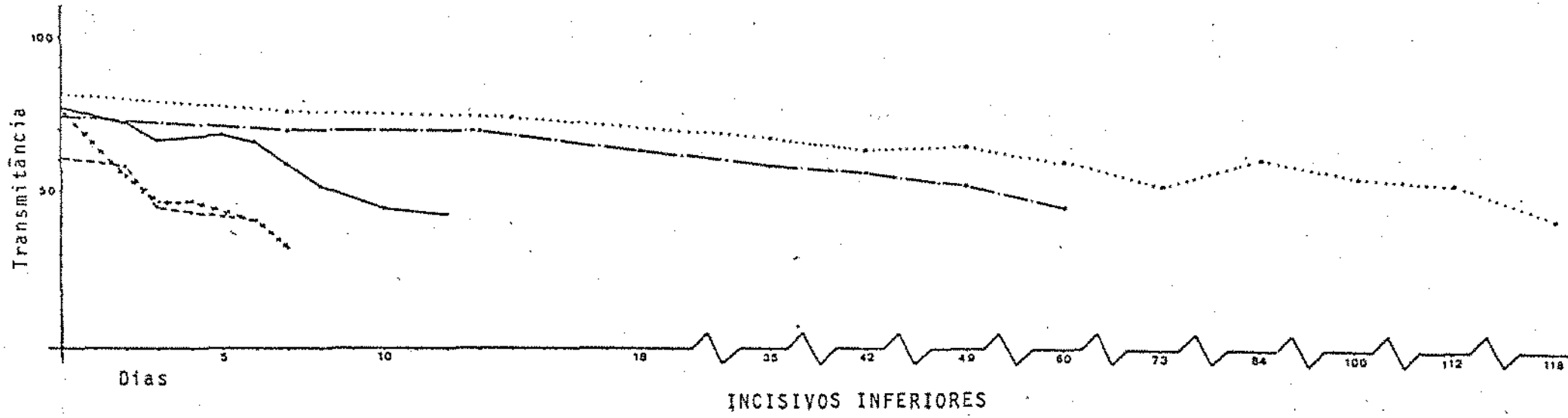


INCISIVO LATERAL SUPERIOR

DESMINERALIZADORES

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————————)
2 - Ácido Fórmico 33% (----------)
3 - E.D.T.A. (·-·-·-·-·-)
4 - Tampão Citrato (.....)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++++)

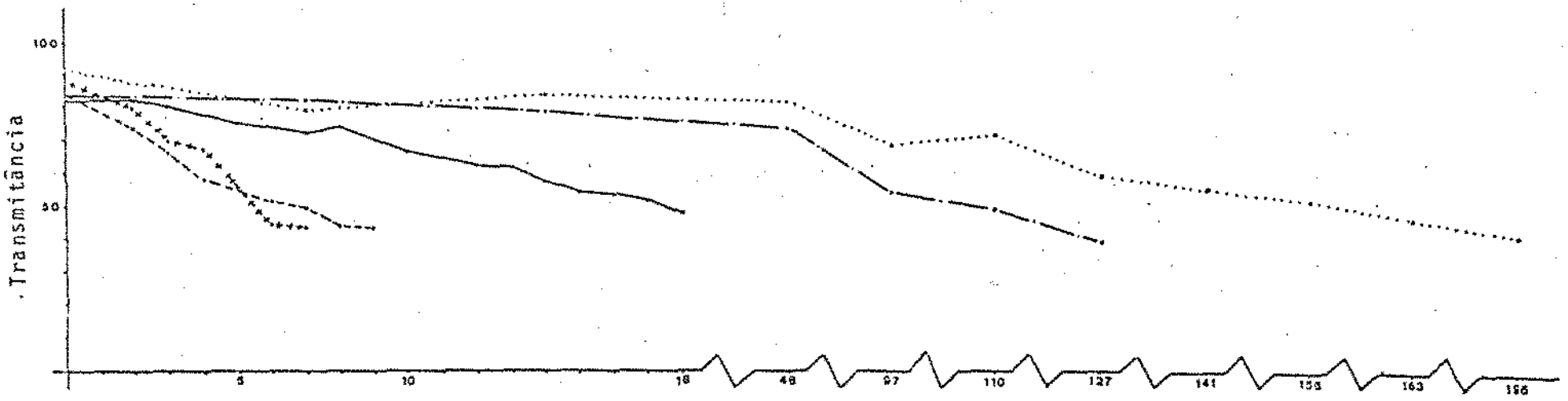
Gráfico 03



DESMINERALIZADORES

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————)
2 - Ácido Fórmico 33% (--------)
3 - E.D.T.A. (·-·-·-·-·)
4 - Tampão Citrato (·····)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++)

Gráfico 04

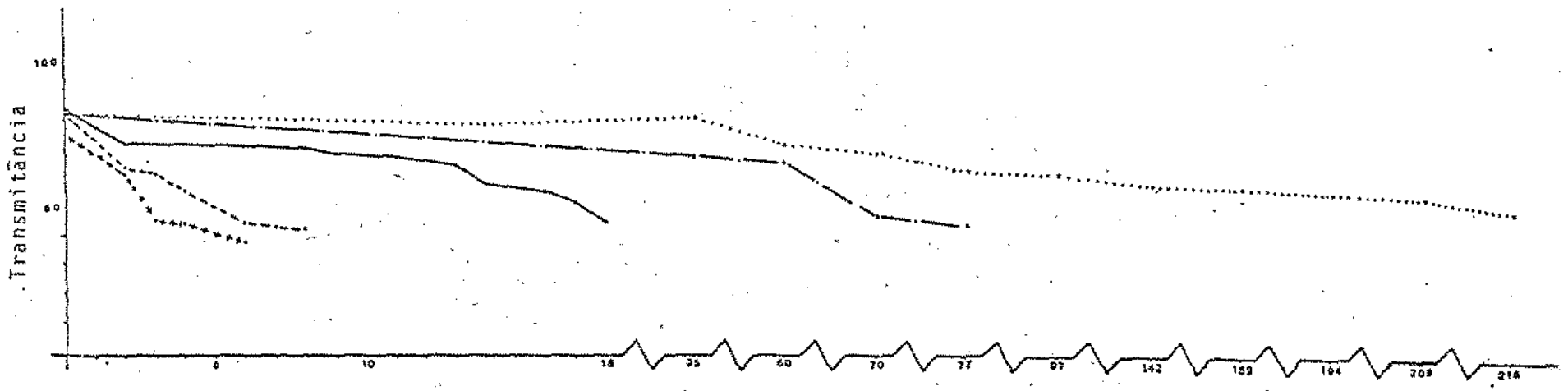


CANINO SUPERIOR

DESMINERALIZADORES

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————)
2 - Ácido Fórmico 33% (--------)
3 - E.D.T.A.(---------)
4 - Tampão Citrato (·····)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++)

.Gráfico 05

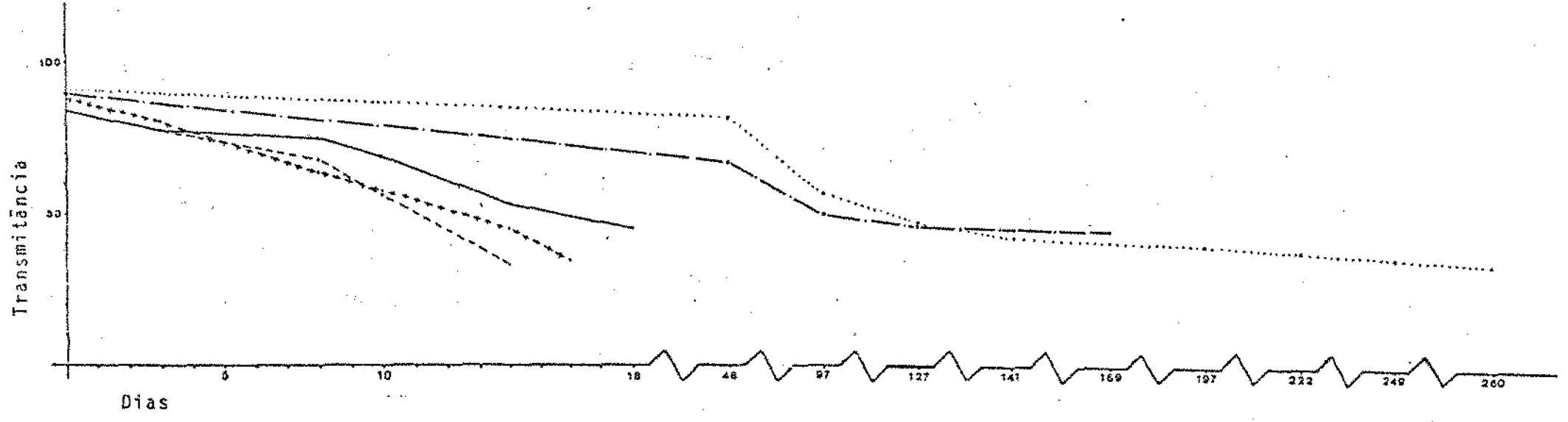


CANINO INFERIOR

.DESMINERALIZADORES

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————————)
2 - Ácido Fórmico 33% (--------)
3 - E.D.T.A. (-·-·-·-·-)
4 - Tampão Citrato (·····)
5 - Ácido Nítrico 5% (+++++++++)

Gráfico 06

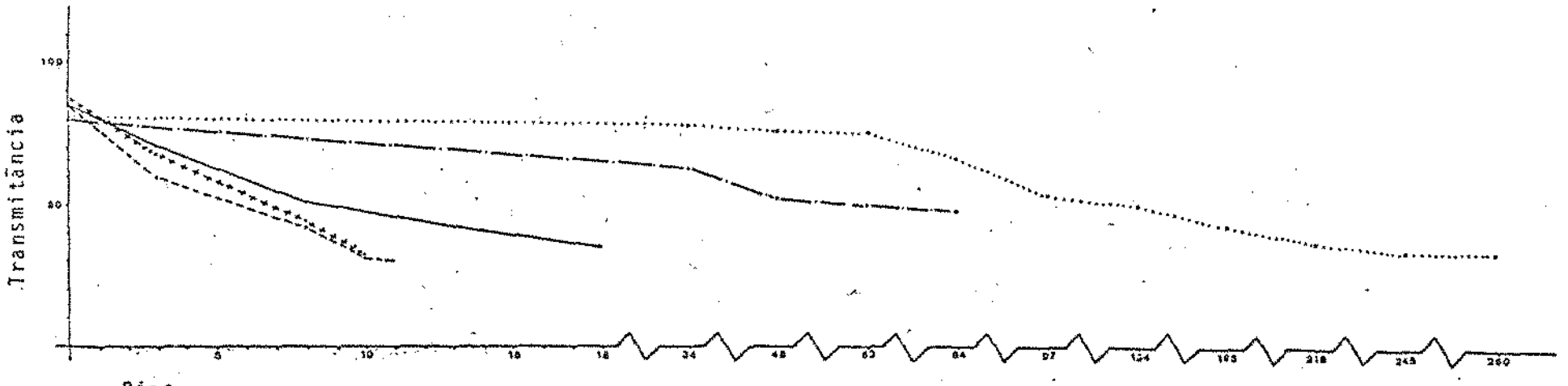


PREMOLAR SUPERIOR

DESMINERALIZADORES:

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————————)
2 - Ácido Fórmico 33% (----------)
3 - E.D.T.A. (·-·-·-·-·-·)
4 - Tampão Citrato (··········)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++++)

Gráfico 07

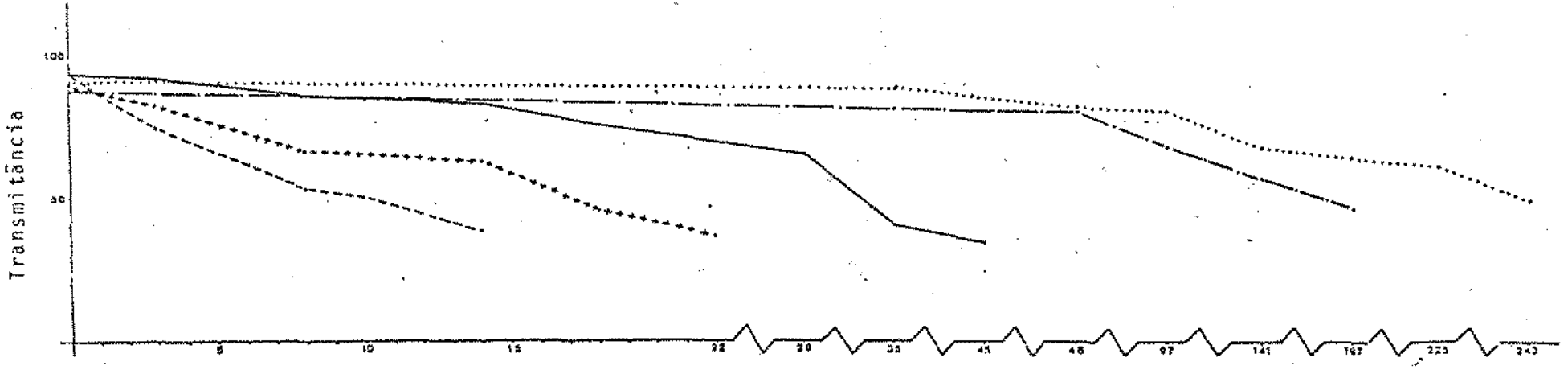


PREMOLAR INFERIOR

DESMINERALIZADORES:

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————)
2 - Ácido Fórmico 33% (----------)
3 - E.D.T.A. (-.-.-.-.-.-.)
4 - Tampão Citrato (.........)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++++)

Gráfico 08



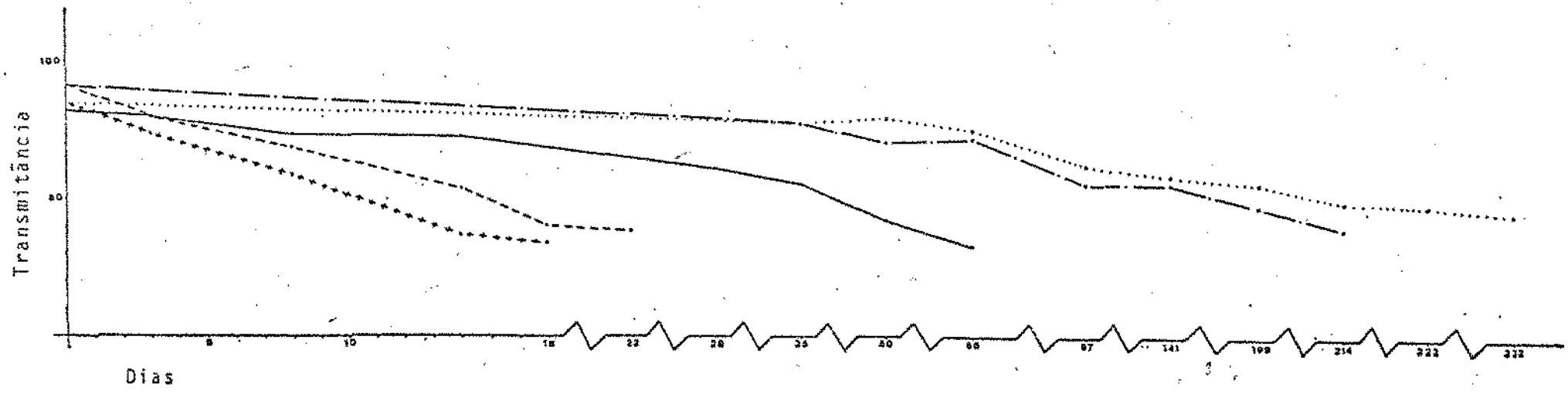
Dias

MOLAR SUPERIOR

DESMINERALIZADORES:

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————————)
2 - Ácido Fórmico 33% (----------)
3 - E.D.T.A. (·-·-·-·-·-)
4 - Tampão Citrato (··········)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++++)

Gráfico 09



DESMINERALIZADORES:

1 - Ácido Tricloroacético 5% (————————)
2 - Ácido Fórmico 33% (----------)
3 - E.D.T.A.(----------)
4 - Tampão Citrato (··········)
5 - Ácido Nítrico 5% (++++++++++)

Capítulo VI

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Conforme se depreende da análise dos resultados da nossa pesquisa, foi confirmado, através do controle radiográfico, que o tempo de desmineralização do dente, para um mesmo agente desmineralizador, é função do volume do espécime, como era previsível. Isto se evidencia pelo exame das tabelas ou gráficos. Tal verificação está de acordo com os dados obtidos por MORSE[18] e, de certa forma, com os de WILLMAN[19], embora este último não tenha sido explícito a este respeito. Na presente pesquisa, os resultados obtidos com os cinco agentes empregados apresentam uma evidente concordância neste particular, crescendo o tempo de desmineralização a partir dos incisivos - tempo mínimo - até o máximo, encontrado para os molares. Os poucos resultados, que indicam uma exceção a essa regra, podem ser explicados pelo fato de que os dentes com que se trabalhou, foram obtidos de diferentes indivíduos, apresentando diferentes graus de mineralização, mas, a tendência geral observada confirma inequivocadamente o previsto. Esses resultados estão também de acordo com os obtidos por WINKLER[20]. Realmente, este autor, ao desmineralizar uma hemi-mandíbula humana, por meio do ácido hidroclorídrico a 5%, relata que aos 8 dias a imagem radiográfica mostrava completa desmineralização dos dentes anteriores e das coroas dos pré-molares, sendo que os molares apresentavam uma porção da dentina já atingida. Ao décimo segundo dia, as raízes dos segundos pré-molares e dos molares ainda não tinham sido afetadas pela solução desmineralizante. No décimo

terceiro dia, pequenas porções dessas raízes ainda resistiam, completando-se a desmineralização do terceiro molar após o décimo quarto dia. Esta ordem de desmineralização, como se viu, está de acordo com a que foi observada no presente trabalho, embora, na experiência de WINKLER[20], as condições básicas fossem bem diferentes no que se refere ao agente, à agitação e à própria situação dos dentes implantados na mandíbula.

À primeira vista, pode-se estranhar que BRAIN[4], utilizando fatias de dentes de 3 mm de espessura, tenha encontrado um tempo de desmineralização de 21 dias para seus espécimes, usando também ácido fórmico. Contudo, é evidente que aqui o problema já reside em outro fator, que é a concentração do ácido fórmico por ele usada. Cumpre notar, a este respeito, que com a adição de ácido fórmico concentrado, o autor relata que o tempo de desmineralização diminuiu para 12 dias. Isto vem confirmar, mais uma vez, a observação de VALDRIGHI & PUPO[17], que salientaram a importância da concentração na velocidade de desmineralização de fatias de dentes humanos, quando usaram, como agente desmineralizador, diferentes soluções de EDTA - etileno diamino tetracetato dissódico - com pH variando de 7,0 a 9,7 e concentrações de 10 e 20%.

No presente trabalho, procurou-se jogar com as variáveis "tipos de dentes" e "tipos de desmineralizador", atuando em temperatura ambiente, em torno de 25°C. Nisto, nossa pesquisa difere da realizada por FERRAZ CORRÊA & MERZEL[7], que fizeram intervir, no experimento, o fator temperatura (4°C, 25°C e 37°C), mas fixaram um só tipo de dente, incisivo de ra

tos albinos adultos, usando vários tipos de desmineralizadores, com diferentes fixadores. Ao se compararem os resultados obtidos naquele trabalho, com os da presente pesquisa, nos ítens em que os autores usaram ácido tricloroacético, ácido fórmico, tampão citrato, EDTA, ácido nítrico e fixador formol salino, verifica-se uma ponderável concordância na ordem da velocidade de atuação desses agentes, em relação aos resultados da nossa pesquisa, obtidos radiograficamente.

Em nosso experimento, para evitar o risco de uma eventual saturação das soluções desmineralizadoras vir a causar variação na velocidade de desmineralização, decidiu-se padronizar a troca dessa solução a cada 48 horas, visando, assim, diminuir o possível efeito apontado por WILLMAN[19]. Dos autores consultados, o único que empregou agitação contínua foi WINKLER[20], na desmineralização total de uma hemi-mandíbula humana, enquanto os outros autores consultados sequer se referem a este fator.

O método adotado neste trabalho, de controle radiográfico da desmineralização de dentes humanos, submetidos a diversos agentes, mostrou-se, a nosso ver, de ponderável eficiência, permitindo uma avaliação objetiva do desenvolvimento do processo de desmineralização, graças ao emprego do fotodensitômetro, que possibilitou a determinação dos graus de transmitância, expressos numericamente, num aprimoramento ponderável, a nosso ver, em relação ao processo de simples avaliação visual.

Com auxílio dos dados obtidos com tal quantificação, pôde-se traçar, para cada tipo de dente e para cada ti

po de desmineralizador, gráficos que indicavam aquela progressiva desmineralização, até atingir um grau de transmitância que correspondia a uma virtual ausência de regiões desmineralizadas.

Obteve-se, assim, um total de nove gráficos, um para cada tipo de dente empregado e apresentando cinco curvas diferentes cada gráfico, conforme o agente desmineralizador empregado, utilizando-se no total, dados obtidos com mais de seiscentas radiografias. A observação dessas curvas permitiu-nos deduzir a validade desse método, pela inequívoca convergência das tendências demonstradas nos gráficos.

Tratando-se de material biológico, isto é, dentes provenientes de diversos indivíduos, além das eventuais variações no posicionamento dos espécimes no momento de cada exposição radiográfica, da quilovoltagem pico e da fortuita concentração de grãos de prata no ponto de incidência do feixe de luz, pode-se justificar as pequenas variações encontradas entre os pontos de cada curva. Contudo, a tendência decrescente que se observa em todas as curvas, no seu direcionamento geral, é inequívoca, como dissemos, em todas as 45 curvas, confirmando a eficiência do método adotado.

Tal "visualização" da marcha do processo, ensejada pela sequência de pontos das curvas, poderá facilitar estudos mais detalhados sobre as diferentes fases de desmineralização, em possíveis pesquisas futuras.

Nos outros trabalhos sobre desmineralização, constantes da nossa pesquisa bibliográfica, não foi encontrada men

ção a tais gráficos, que no processo aqui adotado tornaram-se possíveis, como vimos, graças aos dados numéricos fornecidos pelo fotodensitômetro.

Finalmente, deve ser focalizado um aspecto essencial do presente trabalho, que foi o de investigar se os índices obtidos na transmitância das imagens radiográficas, fornecidas pelo fotodensitômetro, apresentam resultados que podem ser correlacionados com as fases inicial e final de desmineralização dos dentes, nas condições em que foi feito este trabalho.

Evidentemente, deve-se esperar uma certa faixa de variação, uma vez que estamos lidando com material biológico e o processo está sujeito a uma série de fatores não passíveis de controle, como já se apontou anteriormente. Os dados iniciais, obtidos no fotodensitômetro com os dentes ainda íntegros, mostram uma esperada variação de índices de acordo com o tipo de dentes.

Antes da atuação dos agentes desmineralizadores, as leituras dos dentes incisivos mostraram uma tendência de se situarem entre 70 e 80% de transmitância, apresentando, porém, alguns incisivos laterais superiores (3 casos) índices maiores, bem acima de 80%, o que aconteceu apenas em um dos espécimes dos incisivos centrais superiores e também em um dos incisivos inferiores. Os caninos, como era esperado, apresentaram índices de transmitância mais elevados, situando-se no geral entre 80 e 90% de transmitância, com um caso superior a 90% (média de 86,8), ao passo que os caninos inferiores apresenta

ram uma tendência para resultados um pouco menores, com um espécime correspondendo mesmo a 76,2 (média 82,20).

Resultados iniciais análogos foram obtidos nos pré-molares, com os superiores apresentando média de 87,7% e os inferiores com média de 84,2%, sendo que um pré-molar superior ultrapassou a faixa de 90% de transmitância, atingindo 91,1%.

Como seria de se esperar, os molares íntegros apresentaram os maiores índices, com os superiores tendendo a ultrapassar a faixa de 90% de transmitância (média de 91,8%), e os inferiores ficando, em geral, entre 80 e 90%, com média de 87,1.

O exame dos gráficos mostra bem, como já se salientou, a tendência da queda dos valores de transmitância, à medida que avançava o processo de desmineralização, em todos os tipos de dentes e também de desmineralizadores, com as pequenas oscilações que se podiam esperar. Previsíveis foram também as variações dos tempos decorridos no processo, entre os diferentes tipos de dentes, o que se torna bem evidente na simples inspeção dos gráficos.

Neste trabalho, procurou-se determinar o final do processo de desmineralização, usando diversos métodos, tanto subjetivos como objetivos, já bem conhecidos, e visando (tentando) correlacioná-los com os índices obtidos com o fotodensitômetro.

Naturalmente, estes testes não eram aplicados em todas as fases do processo de desmineralização, mas apenas

quando as radiografias, que eram tiradas ao longo do experimento - sempre sensibilizando duas películas, uma das quais era imediatamente processada - sugeriam que os espécimes já estavam praticamente desmineralizados.

Nessa ocasião, eram aí então promovidos testes de perfuração dos espécimes, com instrumento pontiagudo, corte com lâmina de barbear, teste de coloração específica para cálcio e corte do material no micrótomo, o que nos dava certeza de que o processo podia ser considerado como terminado.

Os índices de transmitância, obtidos com os incisivos centrais superiores já desmineralizados, oscilaram em torno da média de 40,2%, sendo que dois exemplares ultrapassaram o nível de 50%, o mesmo acontecendo com os incisivos laterais superiores, fornecendo a mesma média de transmitância de 41,2%. Também foram muito parecidos os resultados obtidos com os incisivos inferiores, com apenas um espécime ultrapassando o nível de 50% e a média ficando em 47,9%.

Os tipos de dentes com maior volume e que exigiram maior tempo para desmineralização, deram como resultado índices de transmitância em geral menores que aqueles de menores volumes. Assim é que os caninos superiores deram como média 44,6% de transmitância, e os inferiores 42,9%, enquanto que os pré-molares superiores tiveram como média 39,2% e os inferiores, 37,6%, tendo finalmente os molares a média de 41,2% para os superiores e 38,6% para os inferiores.

Um fato interessante, por nós verificado, é que as radiografias obtidas com os dentes de maior volume deram ín

dice de transmitância final, em geral menor do que aqueles relativos a dentes de menor volume. Isto pode parecer paradoxal, à primeira vista, mas poderá ser certamente explicado pelo fato de que os dentes maiores exigiram tempo maior de atuação dos agentes desmineralizadores, a fim de que fosse atingida a parte mais interna do espécime. Com isso, as partes periféricas do dente acabaram certamente sofrendo um grau de desmineralização maior do que a ocorrida nos dentes de menores volumes.

Acreditamos que os resultados obtidos tenham demonstrado a viabilidade do controle da desmineralização de dentes por meio do índice da transmitância das imagens radiográficas, possibilitando, inclusive, um estudo da marcha dessa desmineralização por meio de curvas traçadas a partir dos dados numéricos obtidos, o que poderá ser de ponderável utilidade em estudos futuros sobre o processo.

Quanto à relativa variação dos resultados obtidos, explicáveis, aliás, pela variação natural do material biológico objetivado, acreditamos, também, que possa ser diminuída, caso sejam empregados, em futuros experimentos, espécimes mais padronizados, até mesmo com utilização de fatias de dentes com espessuras previamente determinadas.

Evidentemente, um aspecto essencial deste trabalho foi verificar a existência de correlação entre as várias faixas de índices de transmitância obtidos, e os estágios inicial e final do processo de desmineralização dos diferentes tipos de dentes empregados na pesquisa.

CAPÍTULO VII

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

1. A determinação do índice de transmitância das imagens radiográficas, por fotodensitômetro, mostrou ser um método de aplicação simples e de resultados coerentes, para a avaliação do grau de desmineralização de dentes submetidos à ação de agentes químicos, permitindo mesmo o traçado de gráficos indicativos da marcha do processo, em trabalhos de laboratório.

2. Dos diferentes agentes desmineralizadores empregados, o ácido fórmico, em concentração de 33%, comprovou ser o agente de maior intensidade de ação, mostrando, os seus gráficos, o maior declínio. Em seguida, em ordem decrescente de velocidade de ação, ficaram o ácido nítrico a 5%, o ácido tricloroacético a 5%, o etileno diamino tetracetato dissódico (EDTA) e, finalmente, o tampão ácido cítrico.

3. É conveniente o emprego de fatias de dentes de pequena espessura, para obter-se menor dispersão dos índices de transmitância no término do processo de desmineralização.

Capítulo VIII

RESUMO

RESUMO

O presente trabalho visou estudar a possibilidade do emprego da fotodensitometria na avaliação radiográfica do grau de desmineralização de dentes humanos, praticada em laboratório para fins de pesquisa de estruturas dentais.

Foram usados 45 dentes humanos, íntegros e recém-extraídos, formando grupos com cinco dentes de cada um dos tipos seguintes: incisivos centrais superiores; incisivos laterais superiores; incisivos inferiores; caninos superiores; caninos inferiores; pré-molares superiores; pré-molares inferiores; molares superiores e molares inferiores.

Depois de convenientemente limpos, os diferentes dentes de cada grupo foram submetidos à ação de desmineralizadores químicos, a saber: (1) ácido tricloroacético; (2) ácido fórmico; (3) tampão ácido cítrico; (4) EDTA e (5) ácido nítrico, sendo radiografados em uma sequência de tempos determinados, a partir de 24 horas, até atingir o grau de desmineralização considerado como completo, em um prazo variável para cada tipo de dente e cada tipo de desmineralizador aplicado.

As radiografias, assim obtidas, foram processadas de uma só vez, tendo seu grau de transmitância sido medido por meio de fotodensitômetro. Estes dados numéricos permitiram a elaboração de tabelas que avaliavam numericamente o grau de desmineralização de cada dente, em cada fase, e ulteriormente ensejaram o delineamento de curvas indicativas da marcha do

processo de desgaste químico.

Os resultados mostraram que o desmineralizante de ação mais rápida foi o ácido fórmico a 33%, apresentando sua curva o maior índice de declínio médio. Seguiram, em ordem de crescente de velocidade, as curvas correspondentes ao ácido nítrico a 5%, ácido tricloroacético a 5%, EDTA e, finalmente, tampão ácido cítrico.

Ficou confirmado que a velocidade de desmineralização varia, em geral, em relação inversa ao volume do dente considerado. Os resultados numéricos, relativos ao final do processo de desmineralização, situaram-se, entretanto, em uma faixa não suficientemente estreita, o que foi atribuído ao fato de terem sido usados dentes íntegros, sugerindo uma continuação da pesquisa empregando fatias de dentes, para ser obtido um índice que indique melhor o final do processo de desmineralização.

Capítulo IX

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ÁLVARES, S. Estudo comparado da ação de vários agentes descalcificadores sobre os mucopolissacarídeos de fêmures de ratos albinos. Ciênc. Cult., 23(6): 787-90, 1971.

2. BENEDICT, H.C. & KANTHAK, F.F. The solubility of dental enamel in various buffered solutions. J. dent. Res., 12: 277-89, 1932.

3. BERGMAN, G. & LINDEN, A. Microscopy study of enamel decalcification in vitro. Svensk Tandläk, 63: 173-80, 1970.

4. BRAIN, E.B. Rapid demineralization for microscopy of tooth enamel and associated structures. Br. dent. J., 123 : 177-81, 1967.

5. BUNTING, R.W. & PALMERLEE, F. The role of Bacillus Acidophillus in dental caries. J. Am. dent. Ass., 12: 381 , 1925.

6. DOBBS, E.C. Surface resistence of human enamel to acid decalcification. J. dent. Res., 12: 581, 1932.

7. FERRAZ, A.C. & MERZEL, J. Histochemical behaviour of polysaccharide methods on tissues submitted to decalcification. Acta histochem., 25, S. 233-38, 1966.

8. FORBES, J.C. Solubility of enamel. J. dent. Res., 13: 349-58, 1933.

9. FREITAS, A. & MANSON-HING, L.R. Microrradiografia. In : FREITAS, A.; ROSA, J.E.; SOUZA, I.F. Radiologia odontológica. São Paulo, Artes Médicas, 1984. cap. 23, p. 475-80.

10. KARSHAN, M. & ROSEBURY, T. Relation of pH, Ca, and P to solubility of enamel. J. dent. Res., 14: 220, 1934.

11. LANGERON, M. Dissociation, digestion artificielle, decalcification. In: Précis de microscopie. Paris, Masson, 1949. cap. 5, p. 387-97.

12. McMANUS, J.F.A. & MOWRY, R.W. Musculoskeletal system. In: Staining methods; histologie and histochemical. New York, Paul B. Hoeber, 1960. cap. 21, p. 283-9.

13. MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. J. dent. Res., 24: 143-53, 1945.

14. NIKIFORUK, G. & SREEBNY, L. Demineralization of hard tissues by organic chelating agents at neutrol pH. J. dent. Res., 32: 859-67, 1953.

15. PEARSE, A.G.G. Electron histochemistry; Appendix I. In : Histochemistry; theoretical and applied. 2.ed. London, Churchill, 1960. cap. 29, p. 773-82.

16. SHIBATA, F. Radioactivity loses with formic-citrate decalcification. J. dent. Res., 46: 1482, 1967.

17. VALDRIGHI, L. & PUPO, J. Influências das variações de concentração e pH na eficiência descalcificante do ácido etilenadiaminatetracético (EDTA). Ciênc. Cult., 27(7) : 593, 1975.

18. VOLKER, J.F. Studies on the acid solubility of human enamel. J. dent. Res., 19: 35-40, 1940.

19. WILLMAN, A.B.M. A tecnique for the preparation of histologie sections through teeth and jaws for teaching and reaserch. J. dent. Res., 16: 183-90, 1937.

20. WINKLER, S. et alii. Controlled demineralization of bone specimens. Oral Surg., 30: 717-20, 1970.

FOTO 1

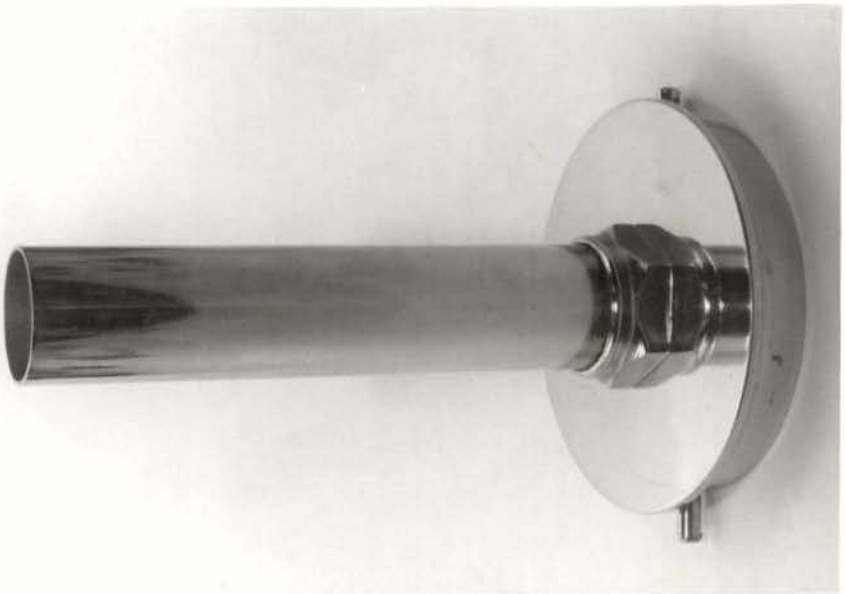


FOTO 3

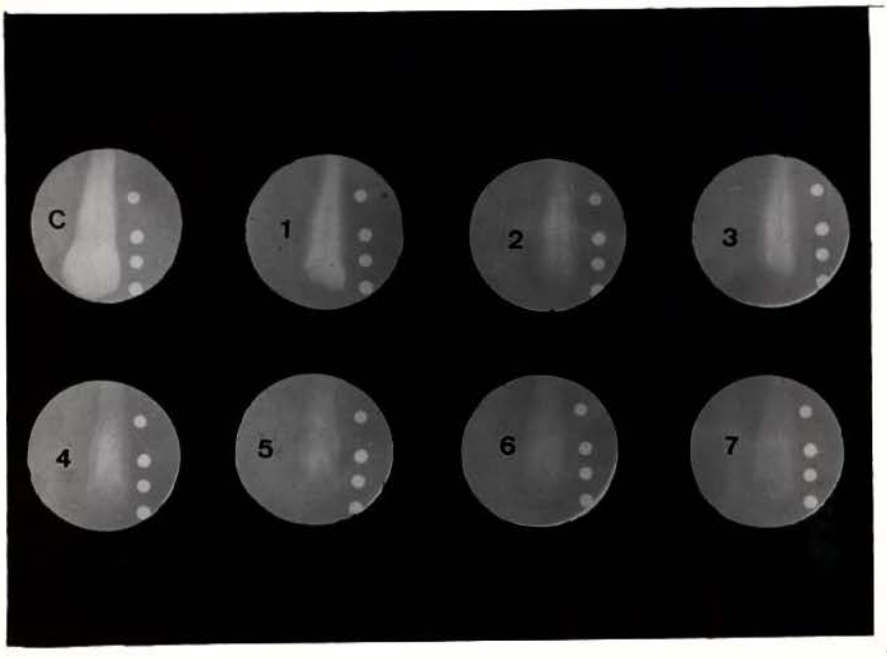


FOTO 4

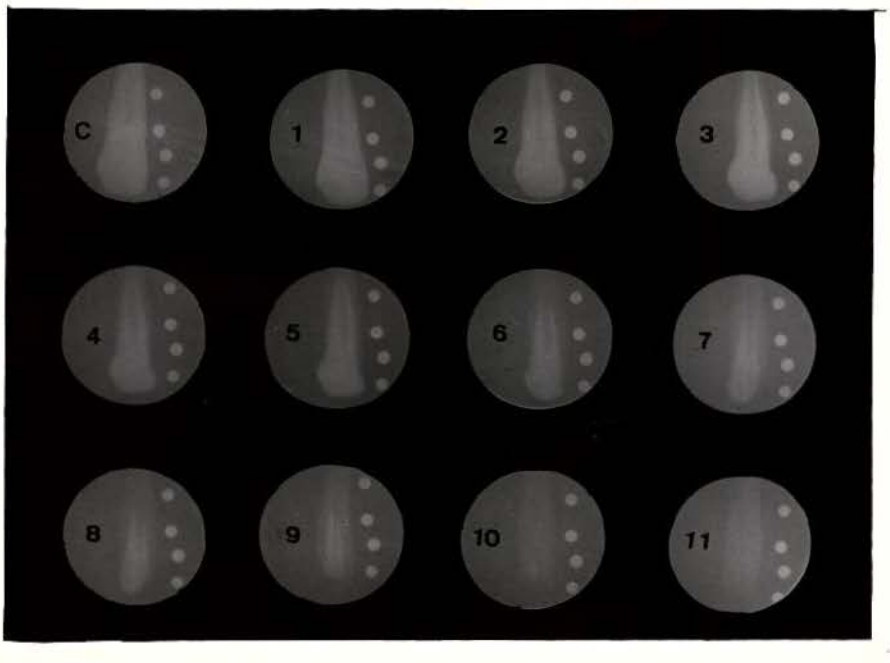


FOTO 5