

Estudo *in vitro* da infiltração marginal em restaurações de resina composta aplicadas sobre superfícies dentinárias tratadas com proteína BMP associada ao laser de Nd:YAG*

In vitro study of microleakage composite restoration in dentin surface treated with bone morphogenetic protein associated with Nd:YAG laser

Renata Cristina Mafra Cecchini**
Cíntia Helena Coury Saraceni****
Márcia Tonetti Ciaramiccoli *****
Denise Sabbagh Haddad*****

Resumo

Introdução – A proteína BMP tem sido encontrada nos processos de reparação óssea após fraturas, agindo como indutora de neoformação óssea. O objetivo deste estudo foi de avaliar a infiltração marginal em restaurações de resina composta aplicadas sobre dentina tratada com BMP associada à aplicação de irradiação com laser de Nd:YAG. **Material e Método** – Cinquenta e dois dentes bovinos foram divididos em três grupos. Todos os dentes receberam preparo de Classe V, padronizados em largura e profundidade e a restauração com resina composta também seguiu o mesmo protocolo para todos os dentes. O Grupo I foi o controle, onde os procedimentos foram realizados de forma convencional. No Grupo II a dentina recebeu tratamento com BMP associada a hidroxiapatita + colágeno seguida de irradiação com laser de Nd:YAG, técnica adesiva e restauração com RC. No Grupo III foi aplicada BMP (+hidroxiapatita + colágeno) + irradiação com laser de ND:YAG + técnica adesiva + nova irradiação + restauração com RC. Após restaurações, as amostras foram termocicladas e submetidas à teste de microinfiltração. **Resultados** – Após a avaliação de três examinadores, foi realizada análise do teste exato de Fisher. A associação da irradiação com laser de Nd:YAG antes e após a aplicação da proteína BMP, mostrou resultados melhores que o grupo controle. **Conclusão** – A associação da irradiação com laser de Nd:YAG e proteína BMP promoveu menor microinfiltração nos preparos de Classe V restaurados com resina composta

Palavras-chave: Proteínas morfogenéticas ósseas; Lasers; Resinas compostas; Infiltração dentária

Abstract

Introduction – The bone morphogenetic protein has been found in bone formation after fracture, acting as bone neoformation inductor. The aim of this study was to evaluate the microleakage composite restoration in dentin surface treated with bone morphogenetic protein associated with Nd:YAG laser irradiation. **Material and Method** – Fifty-two bovine teeth were divided in three groups. Each tooth received Class V restoration, with standard measurements of depth and width. In all groups the conventional treatment of composite restoration were the same. The Group I was a control group, with conventional adhesive and restoration procedures. In the Group II the dentin was treated with BMP + hydroxyapatite + collagen, irradiation with Nd:YAG laser, adhesive technique and composite restoration. In the Group III the dentin was treated with BMP (+ hydroxyapatite + collagen) + NdYAG + adhesive technique + another Nd:YAG laser irradiation + composite restoration. In the Group IV the dentin was treated only with hydroxyapatite, irradiation with Nd:YAG laser, adhesive technique and composite restoration. The samples were submitted to a microleakage test. **Results** – After three different evaluations the Fisher test was concluded. The association of Nd YAG laser after and before application of BMP decreased the microleakage when compared with the control group. **Conclusion** – The association of Nd:YAG laser and BMP promote a lower microleakage in composite Class V restorations.

Key words: Bone morphogenetic proteins; Lasers; Composite resins; Dental leakage

* Pesquisa financiada pela Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Paulista (UNIP), dentro do Programa "Projeto Individual de Pesquisa para Docente".

** Professora Doutora, Titular da Disciplina de Dentística e Materiais Dentários da UNIP. Mestre e Doutora em Dentística pela Universidade de São Paulo (USP). E-mail: renatacecchini@terra.com.br

*** Professora Doutora, Titular da Disciplina de Dentística da UNIP. Mestre e Doutora em Dentística pela USP. E-mail: cintiasaraceni@uol.com.br

**** Professora Adjunta da Disciplina de Dentística da UNIP. Mestre e Doutora em Dentística pela USP.

***** Especialista em Disfunção-temporo-mandibular e Dor orofacial. Especialista em Odontologia para Pacientes com Necessidades Especiais.

Introdução

A microinfiltração ou infiltração marginal foi relatada por Retief²⁸, em 1970, como a principal causa dos insucessos das restaurações, devido à falta de adesão entre dente e material restaurador decorrente da formação de microespaços entre eles.

Para que um sistema adesivo seja efetivo, é necessário que ele entre em íntimo contato com a dentina e tenha componentes que reajam com a umidade inerente a esta estrutura, resultando, assim, num microembricamento mecânico que torna a interface adesiva insolúvel aos fluidos bucais e à penetração bacteriana. Segundo Asmussen e Jorgensen⁴, em 1972, a formação de fendas na interface dente/restauração ocorre devido à diferença de coeficiente de expansão térmica entre a estrutura dentária e o material restaurador e como resultado tem-se microinfiltração.

Vários autores têm avaliado a microinfiltração que ocorre na interface dentina – material restaurador^{10,21,27}. A metodologia para avaliação da microinfiltração consiste na exposição das restaurações a corantes entre eles, o nitrato de prata, fucsina básica, azul de metileno e rodamina podendo se apresentar em diferentes concentrações, o que determina o tempo na qual as amostras são expostas³. Como variáveis pode-se ter o tipo de sistema adesivo, o tipo de resina composta e poucos se referem a alguma variação no substrato, ou seja, ao tipo de dentina que recebe estes materiais, alvo deste estudo.

Tem-se procurado inúmeras alternativas para que se consiga um selamento dentinário ainda mais eficiente e dentre elas destaca-se o laser de Nd:YAG sendo utilizado para tratamento da superfície dentinária antes do procedimento restaurador promovendo derretimento da dentina, obliterando totalmente a entrada dos túbulos dentinários e, conseqüentemente, promovendo o selamento desta dentina¹⁷⁻¹⁸. Esta ação seria a considerada ideal, do ponto de vista de diminuição da microinfiltração, uma vez que impediria a passagem de estímulos e a infiltração bacteriana via dentina até o órgão pulpar^{2,25-26}. Porém, alguns estudos relatam que, apesar de morfológicamente ideal, esta nova estrutura resultante da aplicação do laser não interage satisfatoriamente com os sistemas adesivos disponíveis no mercado⁹. Chega-se, portanto, num impasse: o ideal seria obter-se um selamento efetivo e esta superfície interagir satisfatoriamente com os adesivos e conseqüentemente com os materiais restauradores. A busca por uma solução para este impasse motivou a realização deste experimento.

Também buscando alternativa para diminuição da microinfiltração das restaurações em resina composta, encontram-se as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP) que vêm sendo estudadas em dentina. Proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), identificadas inicialmente pela sua atividade osteoindutora, integram um subgrupo da Superfamília de Fatores de Crescimento – β (TGF- β – Transforming Growth Factor – β). Mais recentemente, pesquisas vêm comprovando seu envolvimento na regulação e modulação de mecanismos celulares durante a morfogênese do órgão dentário e em proces-

sos de reparação tecidual em polpas maduras. Quando aplicadas diretamente sobre o complexo dentino-pulpar induzem a formação de dentina reparadora, mais especificamente osteodentina em maior quantidade e dentina tubular, com mínima ou ausente resposta inflamatória na área exposta. A proteína morfogenética (BMP) ou proteína osteogênica (OP) é definida como sendo uma molécula sintetizadora de mecanismos celulares, envolvida em estágios de formação de uma variedade de tecidos e órgãos, incluindo ossos e dentes e em processos de regeneração e reparo.

Nakashima²³ (1994) examinou a hipótese da proteína morfogenética induzir formação de dentina em polpas amputadas de caninos. Em dois meses a polpa amputada foi preenchida com dentina tubular na parte inferior e osteodentina na parte superior. A quantidade de dentina formada era marcadamente diminuída quando a matriz de dentina sozinha era implantada. Estes achados relacionavam que a BMP-2 recombinante humana e BMP-4 induzem diferenciação de células pulpares em odontoblastos.

Suwa *et al.*³¹ (1993) examinaram a formação e diferenciação de células pulpares sob a influência do complexo HAP/BMP. Este foi implantado em polpas expostas de pré-molares e defeitos ósseos alveolares de cães. Duas semanas após o procedimento, células de fibroblastos proliferaram logo abaixo do complexo implantado e após três semanas, dentina incluindo túbulos proliferaram na polpa. Após quatro semanas uma ponte de dentina composta de dentina osteóide foi encontrada e após oito semanas esta dentina calcificada cobriu a superfície defeituosa da raiz e aderiu ao novo osso circundando os grânulos de HAP. Os resultados indicaram que a dentina induzida pelo complexo HAP/BMP pode ser de dois tipos. Dentina tubular e osteodentina. Este complexo exibiu habilidade de induzir dentinogênese e osteogênese.

Bessho *et al.*⁸ (1991) determinaram a composição e a seqüência parcial de aminoácidos das BMPs a partir de extratos purificados de matriz de dentina humana. A pesquisa indicou que a proteína estudada é composta por 191 aminoácidos em sua formação e os autores concluíram que a estrutura da BMP derivada da matriz dentinária é semelhante à proteína originária da matriz óssea e ambas apresentam a mesma ação *in vivo*. Várias pesquisas observaram que as BMPs podem ser também estimuladoras efetivas nos processos de reparação em tecidos dentais maduros^{7, 15-16,35}.

Com a formação de dentina, níveis expressivos de BMP-7 foram encontrados em odontoblastos funcionais, enquanto que durante a diferenciação em ameloblastos constatou-se baixas quantidades de proteína¹⁶. A atividade dentinogênica também foi observada em outras espécimes de BMPs e não é exclusiva à BMP-7. Nakashima²⁴ (1992) utilizou BMP-2 e BMP-4 derivadas da matriz desmineralizada de dentes bovinos em dentes pulpotomizados de cães obtendo efeitos semelhantes. Experimentos realizados com BMPs compararam o padrão de deposição dentinária de proteína com o padrão de tecido induzido pelo hidróxido de cálcio, comprovando a superioridade da BMP³⁰.

A avaliação da associação dos materiais e equipamentos referidos anteriormente, com o objetivo de diminuir a microinfiltração na interface dente – restauração é o objetivo desta pesquisa, que poderá contribuir para o desenvolvimento de novo protocolo para selamento dentinário.

Material e Método

Neste trabalho foram utilizados 52 dentes caninos de bois, íntegros, armazenados em soro fisiológico 0,9% e mantidos em freezer (-4°C) com a finalidade de manutenção da integridade dentinária³⁴. Foram preparadas cavidades de Classe V, vestibular em todos os elementos, no terço cervical, local de maior frequência de lesões de cárie e desmineralização⁹ em dentes humanos. Os preparos tiveram dimensões de 6 mm no sentido mesio-distal, 2 mm de altura ocluso-gengival e 3 mm de profundidade.

Os 52 dentes caninos foram separados inicialmente em quatro grupos (Grupo I, Grupo II, Grupo III e Grupo IV) de 13 dentes cada um. Todos os preparos foram realizados com alta-rotação (Dabi Atlante), refrigerados pelo sistema de *spray* de água e ar, utilizando uma ponta diamantada da marca KG Sorensen nº 1091, seguindo a delimitação já pré-estabelecida por uma grafite. Cada cavidade foi limpa com detergente aniônico e foi seca com jatos de ar intermitentes. O procedimento restaurador padrão seguiu as indicações dos fabricantes para os materiais utilizados neste trabalho. A restauração foi realizada com resina composta fotopolimerizável (Filtek Z250 – cor A3 – 3M), pela técnica incremental. As duas primeiras camadas foram inseridas de forma oblíqua nas paredes disto-cervical e ocluso-mesial, acomodadas com o auxílio de uma espátula indicada para inserção de resina composta. A terceira camada preencheu totalmente a cavidade e foi alisada com um pincel de ponta chata (pêlo de marta), promovendo uma superfície lisa necessitando de mínimo acabamento após polimerização. Cada incremento foi polimerizado por aparelho de luz halógena XL 1500 (3M – Dental Products), que emitiu intensidade de luz de 60 mw/cm^2 por 20 segundos.

Após os experimentos os dentes ficaram imersos em soro fisiológico 0,9% durante três dias, quando então foram polidos com discos de lixa Sof-Lex – 3M⁹ de granulação decrescente e pontas siliconizadas (Enhance). Após o polimento, as amostras foram submetidas à ciclagem térmica que foi realizada em 1000 ciclos completos, com banhos alternados de temperaturas de 5°C e 55°C , permanecendo 2 minutos em cada banho (MCT2-Amm, USA)¹⁸.

No Grupo I a seqüência restauradora foi executada como foi descrito acima, servindo como grupo controle. No Grupo II, após os preparos e a limpeza das cavidades, foi aplicada sobre a dentina a proteína BMP (em associação com hidroxiapatita + colágeno), seguindo irradiação com laser de Nd:YAG, com comprimento de onda de $1,064\text{ }\mu\text{m}$, potência de 0,6 W, energia de 80 mJ, 25 Hz de frequência, aproxi-

madamente $113,18\text{ J/cm}^2$ de densidade de energia, em modo de varredura da parede axial em direção as bordas da cavidade, durante 1 minuto, inclusive no ângulo cavo-superficial. Em seguida foi realizada técnica adesiva e restauração, conforme descrito anteriormente. No Grupo III, também foi aplicada proteína BMP, seguida de irradiação com laser de Nd:YAG nos padrões anteriormente estabelecidos e técnica adesiva. Após estes procedimentos, as amostras foram novamente irradiadas com laser e, em seguida, foi realizada a restauração em resina composta. No Grupo IV seguiu-se o mesmo protocolo que o Grupo II, com a proteína BMP (em associação com hidroxiapatita + colágeno) sendo substituída por hidroxiapatita reabsorvível.

Após a ciclagem, os dentes foram secos com papel toalha absorvente e foram impermeabilizados com uma camada de éster de cianoacrilato (adesivo instantâneo Universal – Super Bonder) a fim de isolar a região radicular e forame apical. Em seguida, os dentes foram seccionados no primeiro terço radicular e a luz dos canais radiculares foi preenchida com resina composta fotoativada (Filtek Z350 – 3M) e novamente aplicado o adesivo instantâneo (Super Bonder) com a finalidade de impedir a penetração do corante. Excetuando-se a área da restauração acrescida de 1 mm ao seu redor, foram aplicadas três camadas de esmalte cosmético vermelho em toda a estrutura dentária. Após a impermeabilização, as amostras foram imersas em uma solução aquosa de azul de metileno a 4%, durante 4 horas²⁹ e, posteriormente, foram lavados em água corrente durante 1 minuto e secos com papel toalha absorvente. Para facilitar o seccionamento e a manipulação das amostras, estas foram incluídas em resina quimicamente ativada. O seccionamento foi realizado longitudinalmente (sentido vestibulo-lingual), pelo cortador e tecido duro (Labcut, EXTEC), com velocidade de 250 rpms e refrigerado à água, sendo escolhida aleatoriamente uma das porções para a avaliação dos examinadores.

As amostras foram levadas ao microscópio óptico com aumento padronizado em 20 vezes e suas imagens foram gravadas por uma câmera digital. As imagens foram avaliadas por três examinadores calibrados para determinação do grau de microinfiltração nas margens das restaurações, seguindo uma escala detalhada de quatro valores: 0 (zero) – sem microinfiltração; 1 (um) – mínima microinfiltração (menor que 1/3 do comprimento da parede); 2 (dois) – infiltração moderada (entre 1/3 e 2/3 do comprimento da parede e 3 (três) – infiltração extensa (mais que 2/3 do comprimento da parede). Obtidas as pontuações, foram realizados os testes estatísticos.

Resultados

Foi realizada análise estatística a partir da avaliação dos três examinadores calibrados para determinação do grau de microinfiltração nas margens das restaurações, seguindo escala de valores já descrita. Esta análise

se pode ser feita através do teste exato de Fisher e foram obtidos os seguintes resultados:

Tabela 1. Análise comparativa dos Grupos IV e I em relação aos Graus 1 e 2

Microinfiltração	Grupo IV	Grupo I	Total
Grau 1	27	18	45
Grau 2	5	14	19
Total	32	32	64

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 1 (60%) do Grupo IV em relação ao Grupo I, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grau 2 (26%) do Grupo IV em relação ao Grupo I. Também permitiu concluir que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo IV (84%) do Grau 1 em relação ao Grau II, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grupo I (56%) do Grupo II em relação ao Grupo I. Como valor p do teste exato de Fisher tem-se 0, 749.

Tabela 2. Análise comparativa dos Grupos IV e I em relação aos Graus 1 e 3

Microinfiltração	Grupo IV	Grupo I	Total
Grau 1	27	18	45
Grau 3	8	7	15
Total	35	25	60

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 1 (60%) do Grupo IV em relação ao Grupo I, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grau 2 (53%) do Grupo IV em relação ao Grupo I. Também foi concluído que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo IV (77%) do Grau 1 em relação ao Grau 2 foi estatisticamente semelhante em relação ao Grupo I (72%) do Grupo III em relação ao Grupo I. O valor p do teste exato de Fisher foi de 0,7649.

Tabela 3. Análise comparativa dos Grupos IV e I em relação aos Graus 2 e 3

Microinfiltração	Grupo IV	Grupo I	Total
Grau 2	5	14	19
Grau 3	8	7	15
Total	13	21	34

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 2 (26%) do Grupo IV em relação ao Grupo I, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grau 2 (53%) do Grupo IV em relação ao Grupo I. Também foi concluído que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo IV (38%) do Grau 1 em relação ao Grau 2 foi estatisticamente semelhante

em relação ao Grupo I (67%) do Grupo III em relação ao Grupo I. O valor p do teste exato de Fisher foi de 0,1596.

Em relação aos Grupos G I e G IV não houve diferença estatística entre Grupos nem entre Graus.

Tabela 4. Análise comparativa dos Grupos II e I em relação aos Graus 1 e 2

Microinfiltração	Grupo II	Grupo I	Total
Grau 1	14	18	32
Grau 2	19	14	33
Total	33	32	65

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 1 (44%) do Grupo II em relação ao Grupo I, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grau 2 (58%) do Grupo II em relação ao Grupo I. Também permitiu concluir que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo II (42%) do Grau 1 em relação ao Grau II, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grupo I (56%) do Grupo II em relação ao Grupo I. Como valor p do teste exato de Fisher tem-se 0, 3248.

Tabela 5. Análise comparativa dos Grupos II e I em relação aos Graus 1 e 3

Microinfiltração	Grupo II	Grupo I	Total
Grau 1	14	18	32
Grau 2	6	7	13
Total	20	25	45

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 1 (44%) do Grupo II em relação ao Grupo I, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grau 2 (46%) do Grupo II em relação ao Grupo I. Também foi concluído que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo II (70%) do Grau 1 em relação ao Grau 2 foi estatisticamente semelhante em relação ao Grupo I (72%) do Grupo II em relação ao Grupo I. O valor p do teste exato de Fisher foi de 1.

Tabela 6. Análise comparativa dos Grupos II e I em relação aos Graus 1 e 2

Microinfiltração	Grupo II	Grupo I	Total
Grau 2	19	14	33
Grau 3	6	7	13
Total	25	21	46

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 2 (58%) do Grupo II em relação ao Grupo I, foi estatisticamente semelhante em relação ao Grau 2 (46%) do Grupo II em relação ao Grupo I. Também foi

concluído que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo II (76%) do Grau 1 em relação ao Grau 2 foi estatisticamente semelhante em relação ao Grupo I (67%) do Grupo II em relação ao Grupo I. O valor p do teste exato de Fisher foi de 0,5274.

Em relação aos Grupos GI e GII não houve diferença estatística entre Grupos nem entre Graus.

Tabela 7. Análise comparativa dos Grupos III e I em relação aos Graus 1 e 2

Microinfiltração	Grupo III	Grupo I	Total
Grau 1	0	18	18
Grau 2	14	14	28
Total	14	32	46

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 1 (0%) do Grupo III em relação ao Grupo I, foi estatisticamente DIFERENTE em relação ao Grau 2 (50%) do Grupo III em relação ao Grupo I. Também permitiu concluir que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo III (0%) do Grau 1 em relação ao Grau II, foi estatisticamente DIFERENTE em relação ao Grupo I (56%) do Grupo II em relação ao Grupo I. Como valor p do teste exato de Fisher tem-se 0,0002.

Tabela 8. Análise comparativa dos Grupos III e I em relação aos Graus 1 e 3

Microinfiltração	Grupo III	Grupo I	Total
Grau 1	0	18	18
Grau 3	25	7	32
Total	25	25	50

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grau 1 (0%) do Grupo III em relação ao Grupo I, foi estatisticamente DIFERENTE em relação ao Grau 2 (78%) do Grupo III em relação ao Grupo I. Também foi concluído que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo III (0%) do Grau 1 em relação ao Grau 2 foi estatisticamente DIFERENTE em relação ao Grupo I (72%) do Grupo III em relação ao Grupo I. O valor p do teste exato de Fisher foi de 0,0002.

Tabela 9. Análise comparativa dos Grupos III e I em relação aos Graus 2 e 3

Microinfiltração	Grupo III	Grupo I	Total
Grau 1	14	14	28
Grau 2	25	7	32
Total	39	21	60

O teste exato de Fisher permitiu concluir que, para os grupos estudados em relação aos graus, a

proporção do Grau 2 (50%) do Grupo III em relação ao Grupo I, foi estatisticamente DIFERENTE em relação ao Grau 2 (78%) do Grupo III em relação ao Grupo I. Também foi concluído que para os grupos estudados em relação aos graus, a proporção do Grupo III (36%) do Grau 1 em relação ao Grau 2 foi estatisticamente DIFERENTE em relação ao Grupo I (67%) do Grupo III em relação ao Grupo I. O valor p do teste exato de Fisher foi de 0,0311.

Em relação aos Grupos GI e GIII houve diferença estatística entre Grupos e entre Graus. O Grupo III obteve menor infiltração que I em todos os graus.

Discussão

O laser de Nd:YAG começou a ser utilizado no tratamento dos tecidos duros dentais ao se constatar que os efeitos na polpa gerados por ele eram menos agressivos que outros lasers¹⁴.

Na busca de diminuir a microinfiltração bacteriana e conseqüentemente devolver ao elemento dentário o equilíbrio biológico perdido, tentativas de selamento dentinário com os mais diversos materiais têm sido realizadas. Embora se consiga com os sistemas adesivos selamento dentinário eficaz, questiona-se a longevidade da adesão. A possibilidade de utilização de um material biológico como a BMP na tentativa de se atingir resultados no mínimo similares aos já conseguidos pelos biomateriais, motivou a realização deste experimento.

A BMP já tem sido utilizada em procedimentos cirúrgicos com vistas à indução de neo-formação óssea para viabilizar implantes dentários⁵.

A tecnologia a laser também tem sido muito estudada, com a finalidade de definir parâmetros para a utilização em tecidos vivos.

A possibilidade de associação destas duas tecnologias poderia trazer um grande avanço na área restauradora. O levantamento bibliográfico sobre esta associação não forneceu nenhum trabalho que apresentasse a associação proposta nesse experimento, de modo que não houve a possibilidade de realizar uma comparação de resultados.

O laser de Nd:YAG utilizado neste estudo é um laser sólido, cujo meio ativo é um cristal de ítrio-alumínio-granada dopado com o elemento químico neodímio. Emite fluorescência no infravermelho em três comprimentos de onda diferentes: 0,9; 1,06; 1,35. Apresenta uma linha mais intensa em 1,06 micrômetros, sendo necessária uma luz guia para sua localização e aplicações, que usualmente é o laser de He-Ne. É mais absorvido pelos tecidos pigmentados do que por tecidos não pigmentados. Este laser é transmitido pela água e sua penetração é maior em dentina, comparando-se com os outros lasers. Possui um comprimento de onda que apresenta maior comprimento de absorção, isto é, se refere à profundidade que ocorre absorção de 63% da luz e o comprimento de absorção do laser de Nd:YAG atinge uma profundidade de 1 mm, superior aos lasers de

Ho, argônio, CO₂, Er e Excimer (todos em ordem decrescente do comprimento de absorção).

Segundo Dederich¹² (1993), uma dentina esclerótica irradiada com o laser de Nd:YAG, por exemplo, absorverá mais energia do que uma dentina tubular que absorve pouca energia. No Grupo III foram realizadas duas irradiações com o laser de Nd:YAG. A primeira irradiação deixou a dentina com uma coloração escurida. Quando foi realizada a segunda irradiação de laser de Nd:YAG sobre a dentina, após a colocação do adesivo, acredita-se que a penetração do laser tenha sido maior devido a maior absorção deste pelo tecido pigmentado e conseqüentemente o maior selamento também.

Lan e Liu¹⁹ (1995) utilizaram o laser de Nd:YAG em dentina empregando energias entre 20 e 40 mJ, 20 Hz. Estas energias já promovem fusão da superfície dentinária, recristalização, com conseqüente obliteração dos túbulos dentinários, sem a formação de rachaduras na superfície de dentina.

Segundo outro relato de Liu *et al.*²⁰ (1997) estudos através de microscopia eletrônica de varredura têm confirmado que o laser de Nd:YAG pode provocar fusão da dentina e assim obliterações dos túbulos dentinários sem provocar formações de rachaduras nas superfícies dentinárias, reduzindo desta forma a permeabilidade dentinária.

Em decorrência deste fato, Liu *et al.*²⁰ (1997) realizaram um estudo para avaliar a profundidade do selamento nos túbulos dentinários causada pelo tratamento com o laser de Nd:YAG na superfície dentinária e observaram que houve fusão da superfície dentinária e obliteração dos túbulos dentinários. A profundidade de selamento dos túbulos obtida, foi de aproximadamente 4 micrômetros.

O laser de Nd YAG possui uma fibra óptica que tem sua eficiência máxima quando incidida perpendicularmente ao tecido alvo. Anic *et al.*¹ (1998) relataram que o laser de Nd:YAG quando aplicado perpendicularmente à superfície dentinária, pode-se observar que o laser provocou fusão da dentina e recristalização, mostrando em algumas regiões os túbulos dentinários completamente obliterados e, em outras áreas significante redução do diâmetro dos túbulos. Entretanto, quando o laser de Nd:YAG é aplicado diagonalmente à superfície dentinária uma alteração significativamente menor da superfície dentinária é observada em comparação à aplicação perpendicular.

Neste trabalho quando foi realizada a irradiação do laser, procurou-se seguir os protocolos de irradiação^{11,33}. A irradiação só pôde ser de forma perpendicular na superfície axial dos preparos enquanto que nas paredes do mesmo a incidência foi na diagonal, pela própria conformação da cavidade.

A proteína morfogenética (BMP) ou proteína osteogênica (OP) é definida como sendo uma molécula sintetizadora de mecanismos celulares, envolvida em estágios de formação de uma variedade de tecidos e ór-

gãos, incluindo ossos e dentes e em processos de regeneração e reparo.

Nakashima²³ (1994) examinou a hipótese da proteína morfogenética induzir formação de dentina em polpas amputadas de caninos. Em dois meses a polpa amputada foi preenchida com dentina tubular na parte inferior e osteodentina na parte superior. A quantidade de dentina formada era marcadamente diminuída quando a matriz de dentina sozinha era implantada. Estes achados relacionavam que a BMP-2 recombinante humana e BMP-4 induzem diferenciação de células pulpares em odontoblastos. O presente trabalho foi realizado *in vitro* de forma que não foram avaliadas as propriedades osteogênicas.

A associação da BMP com irradiação laser, realizada nesse experimento, teve o intuito de somar as vantagens desses dois materiais e conseguir um resultado satisfatório quanto ao selamento dentinário e diminuição da microinfiltração de restaurações.

Os resultados desta pesquisa mostraram que o Grupo I, controle, quando comparado aos Grupos II (BMP, hidroxiapatita e laser) e Grupo IV (hidroxiapatita e laser), não apresentou diferença estatisticamente significativa, isto é, aparentemente não houve diferença em relação a microinfiltração na interface dente resina quando se utilizou o laser após a aplicação da BMP. Quanto ao Grupo III, onde foi irradiado o laser de Nd:YAG, aplicada BMP e novamente irradiado o laser houve diferença estatística em quase 100% das amostras.

Cabe questionar a real eficiência da proteína BMP, ou se este resultado não é decorrente das duas irradiações com o laser, havendo selamento de dentina, propriedade esta inerente ao laser de Nd:YAG. Diversos trabalhos confirmam a atuação do laser de Nd:YAG em dentina promovendo uma fusão e resolidificação dessa estrutura^{20, 22, 32}.

A metodologia utilizada seria apenas o primeiro passo para a comprovação de que a associação proteína morfogenética (BMP) – irradiação laser poderia ser um procedimento viável na clínica. É certo que será necessário uma complementação de testes e análises envolvendo microscopia eletrônica de varredura, para que se possa indicar com segurança a utilização *in vivo*.

Como precursor de uma série de testes que devem ser realizados, este trabalho cumpriu seu objetivo de servir de linha de pesquisa a todos aqueles que buscam inovação utilizando materiais biológicos que possam contribuir para a reparação satisfatória da atividade pulpar.

Conclusão

A BMP associada à irradiação com Nd:YAG laser proporcionou menor microinfiltração em restaurações de resina composta comparando-se com o procedimento restaurador convencional.

Referências

1. Anic I, Segovic S, Katanec D, Prskalo K, Najzar-Fleger D. Scanning electron microscopic study of dentin lased with argon, CO₂ and Nd:YAG laser. *J Endod.* 1998;24(2):77-81.
2. Araújo RM, Eduardo CP, Duarte Junior SL, Araújo MA, Loffredo LC. Microleakage and nanoleakage: influence of laser in cavity preparation and dentin pretreatment. *J Clin Laser Med Surg.* 2001; 19(6):325-32.
3. Armengol V, Jean A, Enkel B, Assoumou M, Hamel H. Microleakage of Class V composite restorations following Er:YAG and Nd:YAP laser irradiation compared to acid-etch: an *in vitro* study. *Laser Med Sci.* 2002;17(2):93-100.
4. Asmussen E, Jorgensen KD. A microscopic investigation of the adaptation of some plastic filling materials to dental cavity walls. *Acta Odontol Scand.* 1972;30(1):3-21.
5. Barboza EP, Duarte ME, Geolas L, Sorensen RG, Riedel GE, Wikesjo UM. Ridge augmentation following implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in dog. *J Periodontol.* 2000;71(3):488-96.
6. Barnes DM, Thompson VP, Blank LW, McDonald NJ. Microleakage of Class V composite resin restorations: a comparison between *in vivo* and *in vitro*. *Oper Dent.* 1993;18(6):237-50.
7. Bennett JH, Hunt P, Thorogood P. Bone morphogenetic protein-2 and -4 expression during murine orofacial development. *Arch Oral Biol.* 1995; 40(9):847-54.
8. Bessho K, Tanaka N, Matsumoto J, Tagawa T, Murata M. Human dentin-matrix-derived bone morphogenetic protein. *J Dent Res.* 1991;70(3): 171-5.
9. Brackett WW, Girdwood BJ. The effect of finishing method on the microleakage of Class V microfilled composite resin restoration. *J Tenn Dent Assoc.* 1999;79(2):24-5.
10. Cardoso PE, Placido E, Francci CE, Perdigão J. Microleakage of Class V resin-bonded composite restorations using five simplified adhesive systems. *Am J Dent.* 1999;12(6):291-4.
11. Cecchini RCM. Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG em esmalte dental: análise de fluorescência de raios-X e microscopia eletrônica de varredura [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 1997. p.108.
12. Dederich DN. Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? *J Am Dent Assoc* 1993;124(2):57-61.
13. Eakle WS. Effect of thermal cycling on fracture strength and microleakage in teeth restored with a bonded composite resin. *Dent Mater.* 1986; 2(3):114-7.
14. Goodis HE, White JM, Harlan L. Absence of pulpar response from Nd:YAG laser exposure on enamel [abstract n.449]. *J Dent Res.* 1992;71 (Spec.issue):162.
15. Heikinheimo K. Stage-specific expression of decapentaplegic-Vg-related genes 2,4,6 (bone morphogenetics proteins 2, 4 and 6) during human tooth morphogenesis. *J Dent Res.* 1994;73 (3):590-7.
16. Helder MN, Karg H, Bervoets YJM, Vukicevic S, Burger EH, D'Souza RN, *et al.* Bone morphogenetic protein - 7 (osteogenic protein - 1, OP-1) and tooth development. *J Dent Res.* 1998;77(4):545-54.
17. Kawaguchi FA. Influência do laser de Nd:YAG na microinfiltração de preparos de Classe V restaurados com resina composta [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2001. p.71.
18. Kawaguchi FA, Eduardo CP, Matos AB. Nd:YAG laser influence on microleakage of Class V composite restorations. *J Clin Laser Med Surg.* 2003; 21(4):227-9.
19. Lan WH, Liu HC. Sealing of human dentinal tubules by Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1995;13(5):329-33.
20. Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.* 1997; 23(11):691-3.

21. Matos AB, Matson E. Contribuição ao estudo da microinfiltração *in vitro* de lesões cervicais não cáriosas restauradas com diferentes materiais adesivos e técnicas. Rev Odontol Univ São Paulo. 1997;11(Supl):35-41.
22. Morioka T, Tagomori S. Enhancing effects of Nd:YAG laser on remineralization of incipient caries. In: Anderson RR, editor. Laser Surgery; Advanced Characterization, Therapeutics and Systems III. Proc. SPIE 1066, 1989. p.217-8.
23. Nakashima M. Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic protein (BMP) -2 and -4. J Dent Res. 1994;73(9):1512-22.
24. Nakashima M. Mitogenic and dentin-inductive effects of crude bone morphogenetic protein from bone and dentin in primary adult pulp cell culture. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1992;73(4):484-9.
25. Nakaza E. Estudo *in vitro* sobre a microinfiltração marginal em restaurações de resina composta Classe V em dentes bovinos. Tratamento das paredes cavitárias com laser de Nd:YAG [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2002.
26. Navarro RS, Esteves GV, Oliveira WT, Matos AB, Eduardo CP, Youssef MN, *et al.* Nd:YAG laser effects on the microleakage of composite resin restorations. J Clin Laser Med Surg. 2000;18(2):75-9.
27. Pilo R, Bem-Amar A. Comparison of microleakage for three one-bottle and three multiple-step dentin bonding agents. J Prosthet Dent. 1999;82(2):209-13.
28. Retief DH. The principles of adhesion. J Dent Assoc S Afr. 1970;25(9):285-95.
29. Roebuck EM, Whitters CJ, Saundres WP. The influence of three Erbium:YAG laser energies on the *in vitro* microleakage of Class V compomer resin restoration. Int J Paediatr Dent. 2001;11(1):49-56.
30. Six N, Lasfargues JJ, Goldberg N. Differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein 7 (osteogenic protein 1). Arch Oral Biol. 2002;47(3):177-87.
31. Suwa F, Yang L, Ohta Y, Fang YR, Ike H, Deguchi T. Ability of hydroxyapatite-bone morphogenetic (corrected from morphogenetic) protein 7 (BMP) complex to induce dentin formation in dogs. Okajimas Folia Anat Jpn. 1993;70(5):195-201.
32. Tagomori S, Iwase T. Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd:YAG laser. Caries Res. 1995;29(6):513-20.
33. Tannous ST, Vieira M, Pelino JEP, Eduardo CP. Study of the changes of the human dental enamel and cement after the Er:YAG laser irradiation in different angulations. In: 1st Congress of the European Society for Oral Laser Applications; 2001; Viena. Abstracts. Viena: Esola; 2001. p.14.
34. Tonami K. Effect of storage on tensile strength of bovine dentin [abstract n.2161]. J Dent Res. 1996; 75:288.
35. Vainio S, Karavanova I, Jowett A, Thesleff I. Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissue during early tooth development. Cell. 1993; 75(1):45-58.

Recebido em 14/3/2006

Aceito em 16/5/2006