

Investigación

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo

Trial by scanning electron microscopy (SEM) and semi-quantitative spectral analysis of restoration interface - dentin previously demineralized and restored with glass ionomer

AUTORES

PROF. ESP. BIOQ. LILIANA CRISTINA FASOLI

Facultad de Odontología. UNCuyo.
Cátedra de Biofísica

OD. MARÍA NOELIA CONTI VIEJO

Facultad de Odontología. UNCuyo.
Cátedra de Farmacología

RESUMEN

El propósito del trabajo de investigación, fue desarrollar un ensayo de complejidad aceptable para estudios en el ámbito universitario, a fin de observar el grado de penetrabilidad de la restauración con ionómero vítreo de esmalte desmineralizado y a la vez, constatar la presencia de metales y no metales debidos a la restauración que pueden justificar el poder remineralizante otorgado a los ionómeros vítreos. Se utilizaron especímenes de terceros molares retenidos sanos. Se sometieron a un protocolo de desmineralización y posterior obturación con un ionómero vítreo autocurable. Se los preparó para MEB y posterior análisis semicuantitativo químico por espectroscopía por dispersión de rayos X. Se observa un enriquecimiento en masa de fluor en los canales de dentina que incrementan la probabilidad de una posterior remineralización en un elemento dentario vivo.

ABSTRACT

The purpose of the research was to develop a test of acceptable complexity for studies in universities, in order to observe the penetration degree of the restoration with glass ionomer of demineralized enamel and, simultaneously, verify the presence of metals and non-metals due to restoration that can justify the remineralizing power granted to glass ionomers. Specimens of healthy third molars were used and subjected to a demineralization protocol and subsequent filling with a self-curable glass ionomer. They were prepared for a SEM and subsequent semi-quantitative chemical analysis by X-ray scattering spectroscopy. A massive enrichment of fluoride in dentin channels is observed, which increases the likelihood of further living tooth remineralization.

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo.

Prof. Esp. Bioq. Liliana Cristina Fasoli; Od. María Noelia Conti Viejo

INTRODUCCIÓN

La Odontología restauradora y protésica utiliza materiales que restablezcan y remedien las propiedades mecánicas de los elementos dentarios y en los casos de prótesis, reemplazan los elementos con similar funcionalidad que los naturales. A este objetivo se suma que los materiales no deben ser tóxicos y deben ser aceptados por los tejidos aledaños vivos, principalmente la pulpa dental. En este punto es importante marcar la tendencia de los biomateriales dentales estimulen la población de odontoblastos que regeneran la dentina y mantienen la vitalidad de los elementos. (1)(2)

Con respecto al mecanismo de la remineralización, durante el fraguado de los IV se ha descrito la existencia de un intercambio iónico entre este material y la estructura dentaria. Este mecanismo consiste en una unión química de naturaleza iónica entre los grupos carboxílicos y el Calcio de la hidroxiapatita del esmalte y la dentina. El intercambio iónico libera Fluoruro de Sodio en el medio, con fuerte acción

remineralizante en la matriz dentinaria, según la literatura científica. (3) El propósito del trabajo de investigación, fue desarrollar un ensayo de complejidad aceptable para estudios en el ámbito universitario, a fin de observar el grado de penetrabilidad de la restauración con ionómero vítreo de esmalte desmineralizado y a la vez, constatar la presencia de metales y no metales debidos a la restauración que pueden justificar el poder remineralizante otorgado a los ionómeros vítreos.

Dado que Argentina cuenta con centros científicos tecnológicos con desarrollos en servicios para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y el estudio semicuantitativo y espectral del contenido en metales y no metales en diversos materiales de investigación, es que el CCT de Bahía Blanca, a través de su Unidad de Administración Territorial (UAT) de servicios del CONICET realizó los ensayos en el Laboratorio de Microscopía Electrónica. Seleccionamos una metodología de ensayo In Vitro consistente en estudiar por Mi-

croscopía Electrónica de Barrido (MEB) más un análisis semicuantitativo químico sobre las mismas muestras, en la interfase restauración- dentina. Creemos que se ofrece un modelo interesante para visualizar el sitio de acción y de los posibles efectos remineralizantes de los I.V. (4) (5)

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron especímenes de terceros molares retenidos sanos. Se realizó un corte plano a nivel de la dentina media coronal, con un disco de diamante y refrigerando simultáneamente. La superficie se pulió con un piedra de diamante grano fino, bajo agua corriente. Un segundo corte, paralelo al anterior, se realizó a nivel de la interfase esmalte/cemento (límite amelo cementario). Figuras 1,2 y 3.

Se talló el esmalte con turbina y fresa. Se lavó y seco las hemisoronas. Figuras 4, 5 y 6

Se realizó una descalcificación de los especímenes con ácido fosfórico al 37% durante 30 segundos. Se sometió a lavado con agua desmineralizada du-



Figura 1: Corte sagital de elemento.



Figura 2: Corte sagital de elemento.



Figura 3: Corte sagital de elemento.

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo.

Prof. Esp. Bioq. Liliana Cristina Fasoli; Od. Maria Noelia Conti Viejo

rante 60 segundos y se secaron durante 30 segundos con aire. Figura 7. Se sumergieron en solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante 120 segundos a fin de eliminar restos de componentes orgánicos. Se lavaron con agua desionizada durante 60 segundos y se secaron.

Se separaron especímenes usados como control, los cuales no fueron obturados. Se sometieron al resto de las etapas.

Se utilizó un monómero vítreo autocurable comercial, preparado según las especificaciones del fabricante. Figura 8.

Se procedió a la obturación de los especímenes; los controles quedaron sumergidos en agua desionizada a temperatura ambiente, hasta el momento de los ensayos de microscopía. Figuras 9 y 10.

En la Figura 11, se presenta un esquema macroscópico del espécimen, indicando las zonas donde se realizó el microanálisis y la técnica de MEB.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

Las muestras fueron remitidas al **Centro Científico Tecnológico (CCT) Bahía Blanca. Unidad de Administración Territorial al Laboratorio de Microscopía Electrónica**



Figura 4: Tallado del esmalte, conservando la corona del elemento.



Figura 5: Lavado y secado de la cavidad.



Figura 6: Muestra de las hemicoronas para tratamiento desmineralizante.

para la caracterización química de las piezas dentales procesadas. Se solicitó la identificación y medición por semi-microanálisis de los elementos químicos presentes en la interfase restauración con I.V. y dentina (IV/dentina).

Las piezas dentales se remitieron en tubos Eppendorf tapados, con agua destilada y a temperatura ambiente. En el laboratorio de microscopía electrónica fueron cubiertas con una capa fina de oro, mediante evaporadora de metales por 60 segundos.



Figura 7: Tratamiento con ácido fosfórico al 36%.



Figura 8: Material de obturación. Ionómero vítreo convencional autocurable. Se utilizó el producto Chem Flex.

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo.

Prof. Esp. Bioq. Liliana Cristina Fasoli; Od. María Noelia Conti Viejo



Figura 9: Obturación. La cavidad se obturó con el IV y las mediciones se realizaron a nivel de la interfase dentina – IV.



Figura 10: Blancos para sumergir en agua desionizada a temperatura ambiente.

Utilizaron un Microscopio electrónico de barrido (MEB), marca JEOL JSM 35CF, Japón (1984) para tomar imágenes en dos magnificaciones (baja y alta) según muestran las Figuras 11 a

31. En ellas, se observan las interfaces IV/dentinas

Para el estudio EDX (espectro de dispersión de rayos X) de los elementos químicos presente, se realizó

trómetro por dispersión de Rayos X, modelo ZAF.

Se procesaron dos especímenes blanco y cuatro muestras.

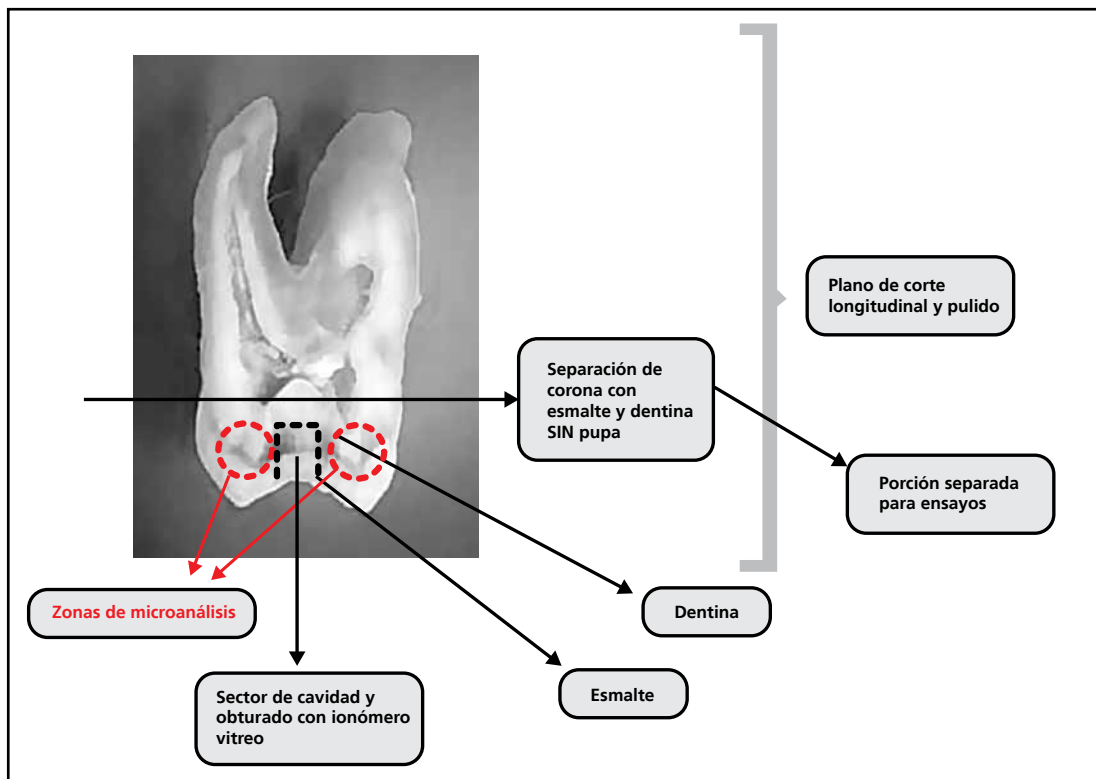


Figura 11: Esquema de las zonas sometidas a microscopía y análisis químico.

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo.

Prof. Esp. Bioq. Liliana Cristina Fasoli; Od. Maria Noelia Conti Viejo

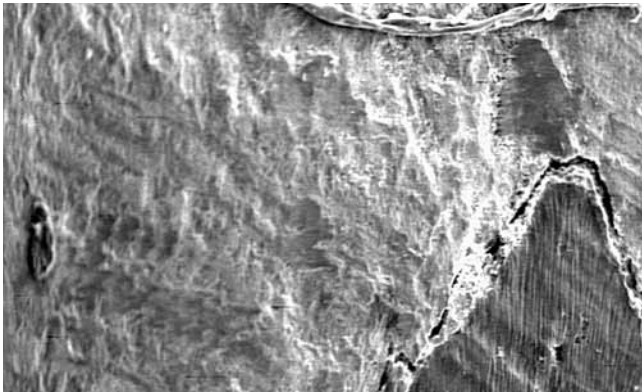


Figura 11: *Espécimen control. Vista panorámica de la cavidad 100x.*

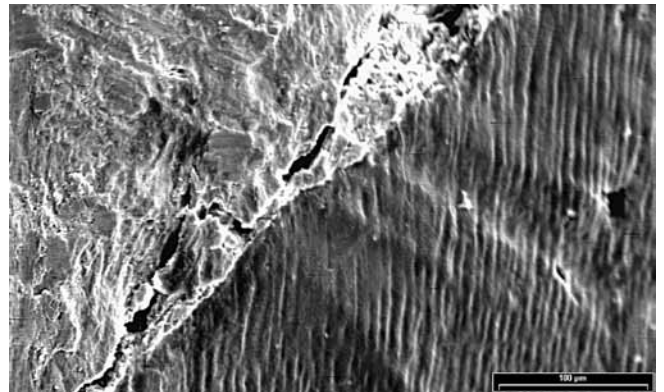


Figura 12: *Espécimen control. Vista panorámica 360 x de interfase cavidad/dentina con los túbulos dentinarios conservados.*

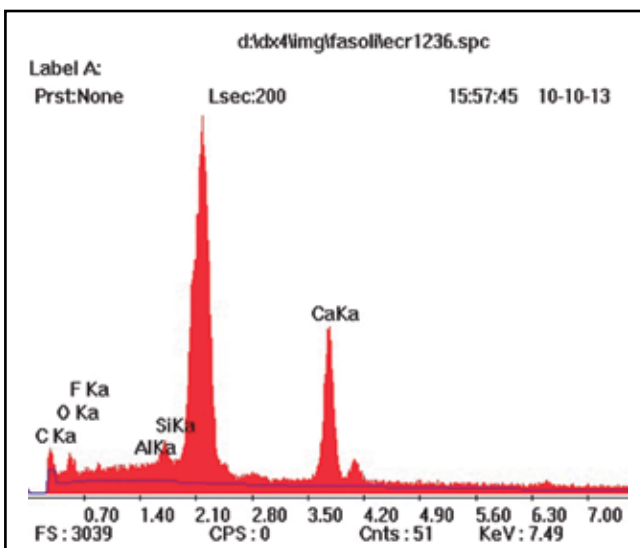


Figura 13: *Espectro de interfase (360x) en control.*

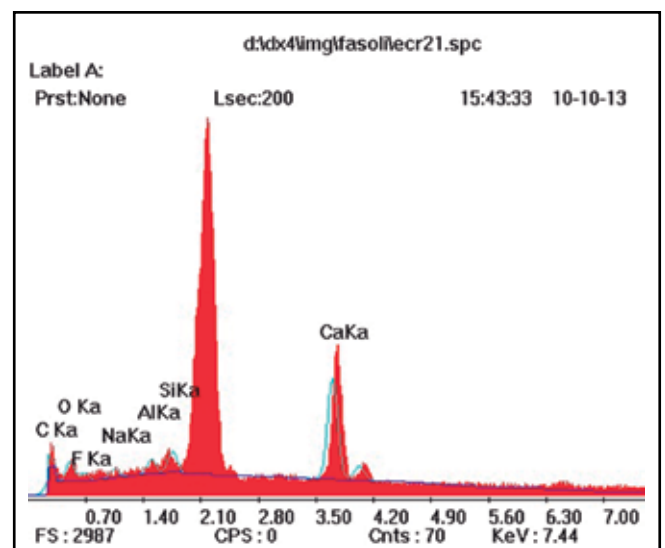


Figura 14: *Espectro de dentina (360x) en control.*

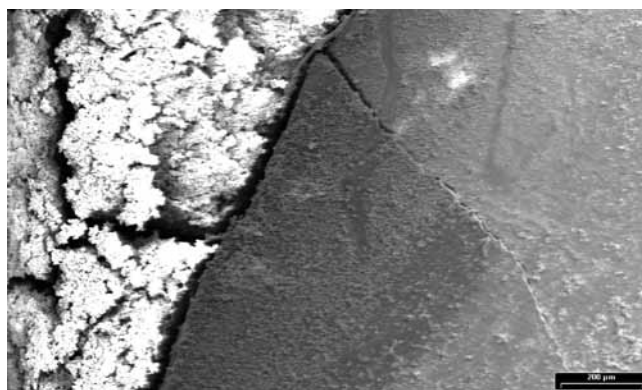


Figura 13: *Vista panorámica 100x de cavidad obturada con IV.*

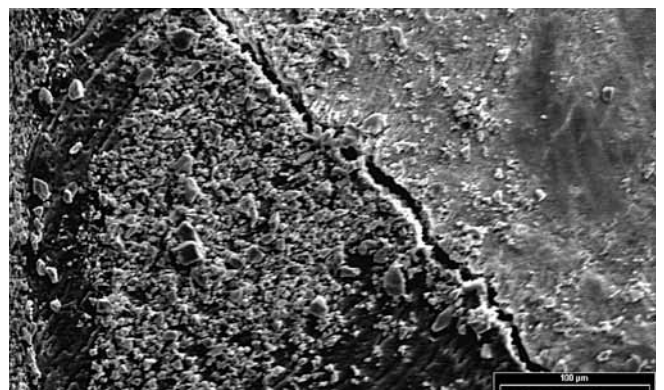


Figura 14: *Vista panorámica 360 x de interfase obturación IV/dentina. Obsérvense los túbulos dentinarios con material incorporado.*

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo.

Prof. Esp. Bioq. Liliana Cristina Fasoli; Od. María Noelia Conti Viejo

Controles	% Fluor	% Aluminio	% Silicio	% Calcio
Interfase	5,157	2,062	4,251	40,073
Dentina	17,176	3,472	3,656	30,481

Tabla 1: Peso promedio porcentual de fluor, aluminio, silicio y calcio de los controles.

Muestras	% Fluor	% Aluminio	% Silicio	% Calcio
Interfase	19,396	9,137	9,271	12,891
Dentina	20,802	11,751	12,197	8,188

Tabla 2: Peso promedio porcentual de fluor, aluminio, silicio y calcio de las muestras.

RESULTADOS

El estudio con MEB muestra a magnificación 100x y 360 m, la interfase de interés. En cada blanco puede observarse la zona de tallado (100 x) y la estructura tubular expuesta (360x) Figuras 11 y 12.

En el análisis semicuantitativo espectral de los controles muestran una buena resolución para detectar aluminio, silicio y calcio, en la interfase, como en

la dentina. El fluor aparece solapado con oxígeno. Figuras 13 y 14.

Los porcentajes promedio de masas de los elementos de interés se muestran en la Tabla 1.

En el análisis semicuantitativo espectral de las muestras se visualiza mayor intensidad y muy buena resolución para fluor, aluminio, silicio y calcio en la interfase, como en la dentina. Figuras 16 y 17.

Los porcentajes promedio de masas de

los elementos de interés en las muestras, se resumieron en la Tabla 2

Los promedios de los porcentajes de cada elemento comparando controles con muestras se resumen en la Tabla 3.

CONCLUSIONES

Mediante este proyecto se intentó demostrar de modo indirecto (In Vitro), que el grado de penetración del IV, que el grado de penetración del IV, en la dentina, en la porción elegida de los

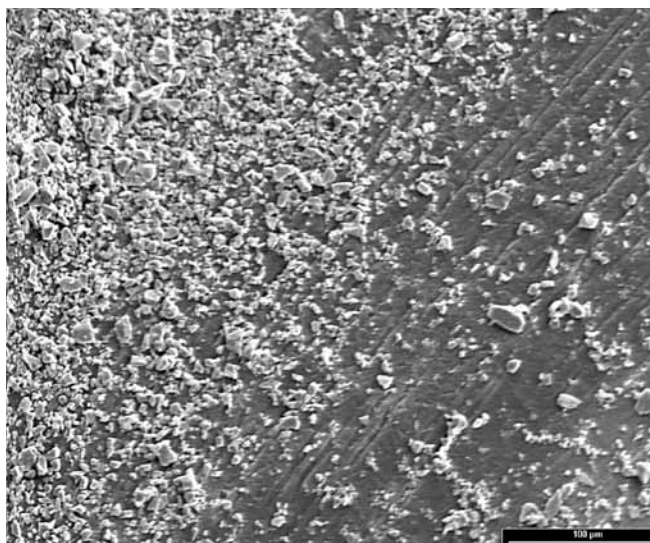


Figura 15: Vista panorámica 360x de la dentina con material incorporado.

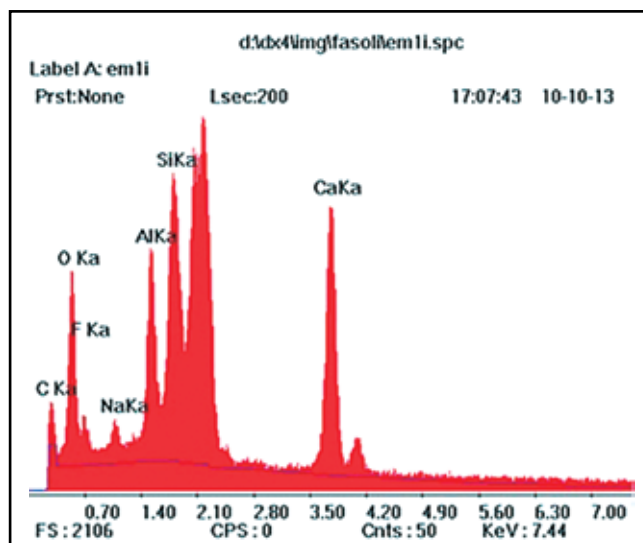


Figura 16: Espectro de interfase (360x) en muestra.

Ensayo por microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis semicuantitativo espectral de la interfase restauración – dentina previamente desmineralizada y restaurada con ionómero vítreo.

Prof. Esp. Bioq. Liliana Cristina Fasoli; Od. Maria Noelia Conti Viejo

Muestras	% Fluor	% Aluminio	% Silicio	% Calcio
Controles	11,1667	2,767	3,9535	20,099
Muestras	20,099	10,444	12,7715	10,5395

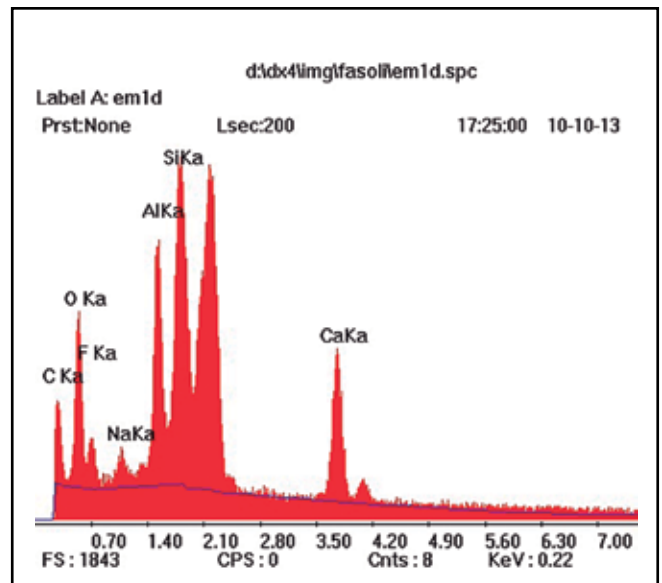
Tabla 3: Promedio de porcentajes de cada elemento en controles y muestras.

elementos dentarios para su estudio, puede garantizar el efecto remineralizante de este biomaterial (7) (8).

Según las figuras espectrales y el análisis semicuantitativo, en la dentina de los blancos ya hay un porcentaje de Fluoruros en relación a la masa que permite sostener la presencia previa del metal en la matriz dentinaria.

En las muestras, tanto en la interfase, como en la dentina, las figuras espectrales y las mediciones semicuantitativas, arrojan valores en porcentaje de Fluoruros en función de la masa del elemento estudiado, con una diferencia a favor de la dentina.

Figura 17: Espectro de dentina (360x) en muestra.



BIBLIOGRAFÍA

1. MACCHI, R.L. *Materiales Dentales*. IIIª Edición. 2000. Editorial Panamericana. Bs. As. Argentina. Cap. 12
2. MODENA, K.C. DA S., CASAS-APAYCO, L.C., ATTA, M.T, COSTA, C.A. DE S. HEBLING, J., SIPERT, C.R., NAVARRO, M.F. DE L., SANTOS, C.F.J. *Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials*. *Appl Oral Sci*. 2009;17(6):544-54
3. KIM YKC, YIU KY, KIM JR, GU L, KIM SK, WELLER RN, PASHLEY DH, TAY FR *Failure of a Glass Ionomer to Remineralize Apatite-depleted Dentin* *J Dent Res*. 2010; 89(3):230-235
4. MARSHALL GW JR1, MARSHALL SJ, BAYNE SC. *Restorative dental materials: scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*. *Scanning Microsc*. 1988 Dec;2(4):2007-28.
5. VALDRÈ G1, MONGIORGI R, FERRIERI P, CORVO G, CATTANEO V, TARTARO GP. *Scanning electron microscopy (SEM) and microanalysis (EDS) applied to the study of biomaterials for dental use*. *Minerva Stomatol*. 1995 Jan-Feb;44(1-2):55-68.