

ESTUDO DA ESPECTROSCOPIA DE REFLEXÃO COM RADIAÇÕES VISÍVEIS E INFRAVERMELHAS PARA DISCRIMINAÇÃO DE TECIDOS PULPARES HUMANOS SADIOS E PATOLÓGICOS

C. Provasi*, P. F. Cassimiro-Silva**, P. A. da Ana*, D. M. Zezell***, A. S. L. Gomes e E. C. Lins*

*Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica – Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, Brasil

**Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil

***Centro de Laser e Aplicações – Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares
e-mail: cprovasi@aluno.ufabc.edu.br

Resumo: A polpa dental é o tecido mais interno do dente. Sua principal função é garantir a dentinogênese e a sensibilidade dental, e por essa razão a informação clínica sobre a saúde da polpa é relevante. Polpas diagnosticadas como não-vitais são encaminhadas para um tratamento endodôntico agressivo, baseado na remoção de todo tecido degradado. Por esse motivo, deve-se haver um esforço em minimizar o número de falsos diagnósticos clínicos da vitalidade pulpar, na intenção de preservar a integridade do paciente. Esse estudo propõe a espectroscopia no visível e no infravermelho como método de melhorar a precisão no diagnóstico do status pulpar. Ele é baseado em confrontar a reflexão óptica dos tecidos no espectro do visível (VIS) e do infravermelho próximo (NIR) (350nm a 1.700nm) no intuito de discriminar polpas humanas vitais de outras polpas sintomáticas de pulpíte. A Análise dos Componentes Principais (PCA) sobre os espectros de reflexão ainda propôs modelos matemáticos de diferenciação dos grupos. Os resultados revelaram que a reflexão óptica pode discriminar o status da vitalidade de polpas humanas vivas; e a análise estatística da PCA revelou precisão de acerto de 100% para radiações NIR e 95% para radiações VIS.

Palavras-chave: Polpas dentais, Vitalidade pulpar, Espectroscopia de reflexão, Radiações visíveis e no infravermelho.

Abstract: Dental pulp is the innermost tissue of teeth. It plays important role in patient's dentinogenesis as well sensing; for this reason, information about dental pulp's health is necessary in the clinical setting. Once dental pulp is diagnostic as non-vital, the clinical procedure suggests a very invasive treatment based on complete removal of infected tissue. This way, false clinical diagnostic should be minimized in order to preserve integrity of patient. This in vivo study purposes visible and infrared spectroscopy as a new method able to increase accuracy in diagnostic of dental pulp status. It is based on comparing tissue optical reflection at visible (VIS) and near infrared (NIR) spectrum (350nm to 1.700nm) in order to discriminate vital human pulps to other ones that present symptoms of pulpitis. Principal

Component Analysis (PCA) on reflection spectra still revealed mathematical models to that differentiation. Results prove optical reflection is able to discriminate vitality status of human dental pulp in vivo; and statistical analyses of PCA revealed 100% and 95% of accuracy, considering radiation at NIR and VIS, respectively.

Keywords: Dental pulp, Pulp vitality, Reflection spectroscopy, Visible and infrared radiation.

Introdução

No dia-a-dia da clínica odontológica uma das informações mais relevantes sobre a saúde dental é a vitalidade pulpar. A polpa dental é o tecido mais interno do dente. É um tecido mole formada por tecido conjuntivo, nervos, fibras e vasos sanguíneos [1].

O protocolo de diagnóstico da vitalidade pulpar sugere a análise da sensibilidade (capacidade do dente em conduzir estímulos nervosos) e do fluxo sanguíneo (garantia da atividade funcional) da polpa através de testes clínicos e o histórico de dor local do paciente [1]. Em geral o fluxo sanguíneo da polpa é aferido ou pela Oximetria de Pulso (OP) ou pela Fluxometria Laser Doppler (FLD) [2]. No caso da sensibilidade, os testes de temperatura e de condução elétrica são os mais usuais [3]. Porém, a literatura destaca que os testes de sensibilidade são aplicados facilmente, mas não são objetivos, enquanto que os testes de fluxo sanguíneo são objetivos, mas a sua instrumentação ainda não é adequada [1, 4].

Assim, a proposta do presente projeto de pesquisa foi realizar um estudo de espectroscopia da reflexão de radiações visíveis e infravermelhas (350nm a 1.700nm) para discriminação de polpas humanas vitais de polpas patológicas sintomáticas de pulpíte. A espectroscopia de reflexão se caracteriza por analisar o espectro de radiações refletidas e/ou retro espalhadas pelo espécime experimental. A proposta tenta revelar qual região espectral discrimina de forma estatisticamente significativa as polpas sadias das patológicas, afim de propor a reflexão das polpas como método de diagnóstico.

Materiais e métodos

Instrumentação – Para esse experimento foi utilizado um espectrômetro modelo DSR-CXR-512 (StellarNet, Inc., EUA) (Figura 1). Ele combina dois espectrômetros, um com sensor de silício para operar no visível e infravermelho próximo (VIS/NIR, 350nm a 1.000nm) (Fig. 1-1); e o outro com sensor de InGaAs para operar no infravermelho próximo (NIR, 900nm a 1.700nm) (Fig. 1-2). Completam o equipamento uma fonte de luz modelo SL1 (StellarNet, Inc., EUA), composta por uma lâmpada de tungstênio e halógena, que emiti radiação entre 350nm e 2.300nm (Fig. 1-3) e ainda um probe de refletância com diâmetro externo de 1/8 de polegada composto por um total de oito fibras ópticas (Fig. 1-4).

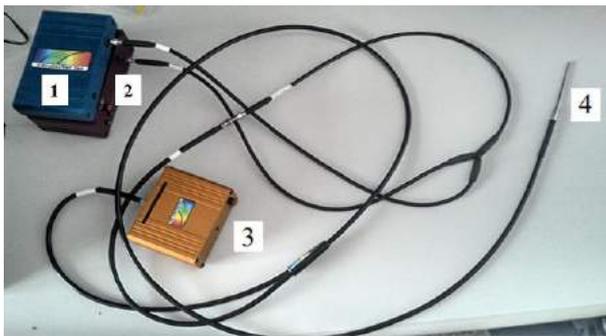


Figura 1: Espectrômetro modelo DSR-CXR-512 composto por um espectrômetro com detecção no VIS/NIR (1), um espectrômetro com detecção no NIR, uma fonte de iluminação (3) e um probe de refletância (4).

Protocolo clínico da coleta de espectros em polpas vitais – Neste primeiro protocolo clínico, foram selecionados 10 elementos dentais de pacientes que devido à má oclusão de Classe II completa eram indicados ao tratamento ortodôntico, precisando extrair os pré-molares. Após a exodontia, os elementos eram congelados e trazidos ao laboratório, onde o corte para exposição da polpa era realizado com um motor de corte utilizando disco de Carbetto de Silício (carbúndum). Para a coleta dos espectros as polpas foram secadas com papel e levadas ao espectrômetro imediatamente após a sua remoção do elemento dental; as medidas foram realizadas com o tecido em cima de um suporte metálico preto a fim de evitar reflexões da superfície em que a polpa estivesse em contato, as quais agiriam como ruído óptico nos espectros. A coleta consistiu simplesmente em colocar o probe de refletância em contato com a polpa e através do próprio software do espectrômetro ocorreu a captura dos espectros no visível e infravermelho.

Protocolo clínico de coleta de espectros em polpas não sadias - Neste segundo protocolo clínico, foram capturados espectros de reflexão em 10 polpas humanas dentro do centro cirúrgico durante a realização de um procedimento terapêutico de endodontia. Ocorria o posicionamento do probe do espectrômetro devidamente desinfetado e protegido com filme plástico de PVC de detecção sobre a polpa dental durante o ato cirúrgico (Figura 2), onde o acesso à polpa era permitido por haver uma abertura oclusal de acesso à câmara pulpar do paciente.



Figura 2: Captura dos espectros no grupo de polpas não sadias dentro do centro cirúrgico com a inserção do probe de refletância pela abertura oclusal do dente do paciente.

Resultados e Discussões

Análise no NIR (900nm a 1.700nm) - A Figura 3 mostra os espectros de reflexão NIR de ambos os grupos de polpas vitais (G1) e patológicas (G2), e normalizados pela reflexão em 1.300nm. Três bandas são bem identificadas no espectro: uma banda denominada B1100, a qual é centrada em 1.100nm e varia entre 900nm e 1.250nm; outra denominada B1300, centrada em 1.300nm e variante entre 1.250nm e 1.350nm; e a última denominada B1500 é centrada em 1.550nm e varia entre 1.450nm e 1.700nm.

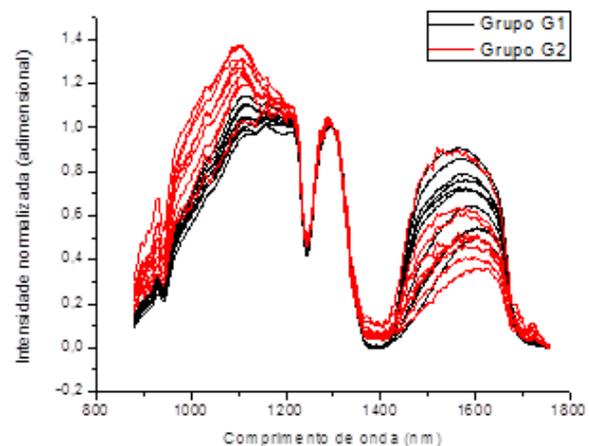


Figura 3: Espectros NIR normalizados em 1.300nm. Em preto o grupo de polpas vitais (G1) e em vermelho o grupo de polpas patológicas (G2).

Observando de forma generalizada o comportamento espectral dos dados fica evidente que em B1100 o tecido patológico reflete mais radiação que o tecido sadio, comportamento que se inverte na banda B1500, quando o tecido sadio passa a ser o mais refletivo. Essa variação de refletividade dos tecidos é resultante de múltiplos fatores biológicos que desencadeiam a pulpíte, e que nesse estudo são interpretadas como variáveis espectrais do sistema. A literatura destaca a concentração de nutrientes e água no tecido como fatores fundamentais para a ocorrência da pulpíte; outros fatores como o aumento da pressão tecidual e concentração de alguns

patógenos, como o *Streptococcus Mutans*, também são responsáveis pelo desencadeamento da inflamação pulpar.^[4] Por esse motivo, escolhemos analisar os espectros com a Análise dos Componentes Principais (PCA); essa técnica de estatística multivariada se baseia em atribuir autovalores a cada espectro experimental a partir da variância experimental revelada.^[5]

Após a normalização, a PCA foi primeiro aplicada considerando toda a região do NIR (PCA-NIR) e em seguida, para as bandas B1100 (PCA-B1100) e B1500 (PCA-B1500), separadamente; isso para também tentar encontrar a banda mais eficiente na discriminação dos grupos. A Figuras 4 mostram os gráficos de escores resultantes da PCA-NIR (Fig. 4A), da PCA-B1100 (Fig. 4B) e da PCA-1500 (Fig. 4C) com os seus respectivos modelos matemáticos para discriminação dos dois grupos de amostras. As análises foram feitas no software Unscrambler X[®] (Camo Software AS, Noruega). Cada um dos gráficos de escores são compostos pelas componentes principais PC1 e PC2. Para normalizar os gráficos ficou estabelecido a variação do eixo do PC1 entre -4 e 4, enquanto o software ajustava o eixo PC2 para visualização dos dados. Nos gráficos, o software ainda rotulou as amostras do G1 por A e as do G2 por B.

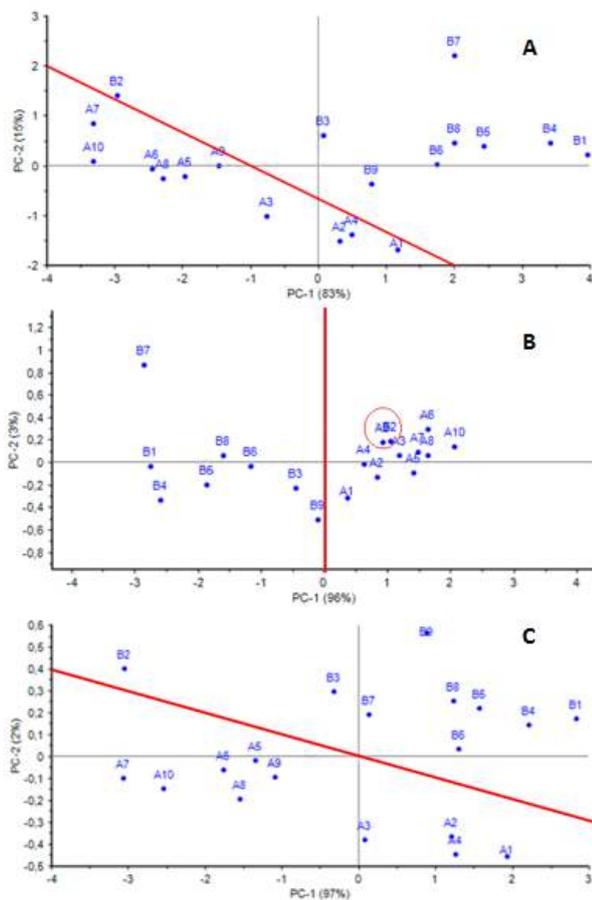


Figura 4: Gráfico de escores da PCA-NIR. A reta em vermelho mostra o modelo matemático $PC1+PC2=0$ que faz a separação dos dois grupos de amostras: de A1 à A10 o grupo de polpas sadias (PC1 negativos) e de B1 à B10 o grupo de polpas patológicas (PC1 positivos).

No gráfico da PCA-NIR (Fig. 4A) a componente PC1 possui 83% de correlação com a variância dos dados enquanto a PC2 possui 15% de correlação. Somadas, essas duas componentes principais revelam 98% de correlação com a variância dos dados. O gráfico revela ainda que as nuvens de pontos dos grupos experimentais não possuem intersecção significativa de forma que um modelo matemático para o diagnóstico da patologia pôde ser proposto. Assim, uma função diagnóstico $D_{NIR}(PC1,PC2)$ foi determinada a partir da equação da reta definida por $2PC1+3PC2+2=0$. Dessa maneira, se $D_{NIR}<0$ o diagnóstico é positivo para sadio, enquanto que $D_{NIR}>0$ é positivo para indicação à endodontia. Para os espectros coletados, o modelo prevê 19 acertos em 19 tentativas (taxa de acerto de 100%)

No gráfico da PCA-1100 (Fig. 4B), a componente PC1 possui 96% de correlação com a variância dos dados enquanto a PC2 possui 3% de correlação. Somadas, essas duas componentes principais revelam 99% de correlação com os dados. Esse gráfico também revela que as nuvens de pontos dos grupos experimentais não possuem intersecção significativa de forma que um outro modelo matemático pode ser proposto como sendo uma função diagnóstico $D_{B1100}(PC1)$ determinado pela equação da reta definida por $PC1=0$, dessa maneira, se $D_{B1100}<0$ o diagnóstico é positivo para indicação à endodontia, enquanto que $D_{B1100}>0$ é positivo para polpa vital. A reta traçada em vermelho representa o modelo linear no eixo das abscissas do plano cartesiano das PCs. Este modelo apresenta uma taxa de acertos de 94,7%, e a amostra B2 representa um falso diagnóstico (dado destacado pela circunferência em vermelho).

O gráfico de escores PCA-B1500 (Fig. 4C) revelam que PC1 e PC2 representam 99% de correlação com os dados, dos quais PC1 possui 97% de correlação com os escores calculados e PC2 apresenta 2% de correlação. A função diagnóstico para separar os dois grupos $D_{1500}(PC1,PC2)$ foi determinada a partir da equação da reta definida por $5PC2+PC1=0$. Dessa maneira, se $D_{1500}<0$ o diagnóstico é positivo para sadio, enquanto que $D_{1500}>0$ é positivo para indicação à endodontia. Aqui também se verifica 19 acertos em 19 tentativas. Uma observação nos resultados da PCA-1500 é que de forma semelhante à PCA-1100 os escores calculados também são fortemente correlacionados com PC1 e pouco correlacionados com PC2, porém de forma diferente à análise anterior, o melhor modelo proposto para PCA-1500 para discriminação dos seus grupos experimentais deve considerar as duas variáveis PC1 e PC2.

Análise no VIS/NIR (350nm a 1.000nm) – Na análise no VIS/NIR os espectros apresentavam variações espectrais no pico de reflexão, motivo pelo qual limitou a normalização dos espectros apenas à área abaixo da curva, admitindo que todos os espectros tivessem a mesma energia total. A Figura 5 apresenta os espectros de reflexão na região do VIS/NIR normalizados pela área.

Já a Figura 6 mostra o resultado da PCA aplicada sobre esses mesmos espectros de reflexão normalizados (PCA-VIS). Aqui, o gráfico de escores também é

composto pelas duas componentes principais PC1 e PC2, que possuem os mais altos graus de correlação com a variância dos dados experimentais. Neste gráfico, a componente PC1 possui 43% de correlação com a variância dos dados enquanto a PC2 possui 14% de correlação. Somadas, essas duas componentes principais revelam 57% de correlação com os dados, valor bem abaixo dos valores obtidos na espectroscopia NIR. Seguindo a metodologia experimental, a função diagnóstica $D_{VIS}(PC1)$ foi determinada a partir da equação da reta definida por $PC1+0,001=0$. Dessa maneira, se $D_{VIS}<0$ o diagnóstico é positivo para indicação à endodontia, enquanto que $D_{VIS}>0$ é positivo para polpa sadia. A reta traçada em vermelho representa o modelo linear no eixo das abscissas do sistema cartesiano das PCs. Este modelo apresenta um diagnóstico de 19 acertos em 20 tentativas (taxa de acerto de 95%) e a amostra A9 representa um falso diagnóstico (dado destacado pela circunferência em vermelho). Aqui, o modelo matemático é posto em prova, pois a baixíssima amplitude dos valores dos scores, devido à própria normalização pela área, torna as componentes principais sensível à variações espectrais característica do próprio erro experimental; diferente à normalização pelo pico ou uma banda estreita específica.

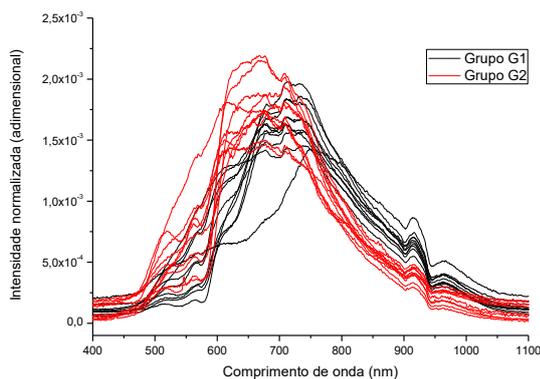


Figura 5: Espectros VIS/NIR normalizados pela área. Em preto o grupo de polpas sadias (G1) e em vermelho o grupo de polpas patológicas (G2).

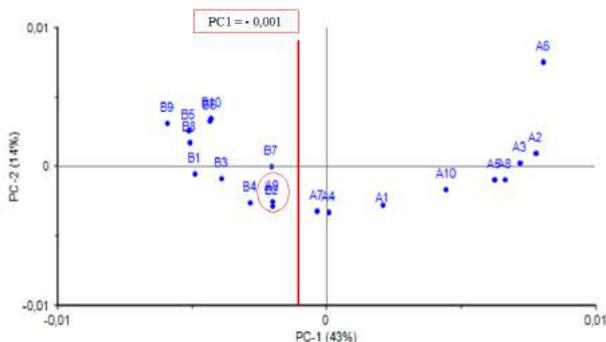


Figura 6: Gráfico de escores da PCA-VIS. A reta em vermelho mostra o modelo matemático $PC1=-0,001$ que faz a separação dos dois grupos experimentais.

Conclusão

Com relação à metodologia aplicada, pode-se concluir que por se tratar de um experimento inédito na literatura, tal metodologia foi bem-sucedida, e tornou possível a análise da reflexão no VIS/NIR e NIR com o intuito de discriminar tecidos vitais de tecidos sintomáticos de pulpites. Como crítica principal à instrumentação fica a dificuldade da coleta dos espectros com o probe de refletância reto, e como crítica ao processamento dos dados fica o conceito de evitar a normalização pela área do espectro.

Outro objetivo alcançado é a prova da eficiência da PCA na discriminação dos grupos experimentais, uma vez que tanto no NIR quanto no VIS/NIR foi possível a proposição de modelos matemáticos de discriminação entre as polpas sadias e as patológicas. A discriminação dos grupos tem significância estatística garantida pela variância dos espectros coletados. Apesar do sucesso, os resultados da PCA no visível foram criticados por apresentar uma variação nos escores na mesma ordem de grandeza da variância dos espectros, mostrando que erros experimentais poderiam induzir falsos diagnósticos.

Com relação à análise por banda, a conclusão é que tanto a B1100 como a B1500 serão bem-sucedidas no diagnóstico, desde que se tome como referência a reflexão em B1300. A PCA-1100 apresentou uma nuvem de dados mais concentrada que a PCA-1500 e isso pode ser considerado como vantagem, uma vez que remete à precisão dos dados. Por outro lado, a literatura destaca que a água apresenta forte absorção óptica em B1500, e sendo a escassez do sangue um dos principais agentes da degradação pulpar, é natural se esperar que B1500 seja mais sensível à degradação da polpa dental do que B1100.

Agradecimentos

Pelo suporte financeiro da FAPESP (Edital PPP, processo: 2012/50593-5) e da CAPES (PROCAD, processo: 88881.068505/2014-01). Pelo suporte técnico da Faculdade São Leopoldo Mandic, através do Professor Aguinaldo S. G. Segundo. Pelo suporte técnico da Faculdade de Odontologia do Recife, através da Professora Sandra Sayão.

Referências

- [1] Gopikrishna V, Pradeep G, Aenkateshbabu N. Assessment of pulp vitality: a review. *Int J Paed Dent* 2009; Vol. 19, p. 3-15.
- [2] Jafarzadeh H, Rosenberg, PA. Pulse Oximetry: Review of a Potential Aid in Endodontic Diagnosis. *J Endodontics*. 2009, Vol. 35, p. 329–333.
- [3] Ehrmann EH. Pulp testers and pulp testing with particular reference to the use of dry ice. *Aust Dent J*, 1977, Vol. 22, p. 272–279.
- [4] Ingle JJ, Beveridge JE. *Endodontics*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1976.
- [5] Sharaf M, Illman D, Kowalski B. *Chemometrics*. New York, John Wiley & Sons, 1986.