



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

THAIS DOS SANTOS NOBREGA

ANÁLISE COMPARATIVA DA DENTINA CORONÁRIA DE
DENTES DECÍDUOS HUMANOS E BOVINOS

PIRACICABA

2017

THAIS DOS SANTOS NOBREGA

ANÁLISE COMPARATIVA DA DENTINA CORONÁRIA DE
DENTES DECÍDUOS HUMANOS E BOVINOS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual
de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para obtenção do título de
Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof^a Dr^a Fernanda Miori Pascon

Coorientador: Alexsandra Shizue Iwamoto

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE
CURSO APRESENTADO PELA ALUNA THAIS DOS
SANTOS NOBREGA E ORIENTADA PELA
PROFESSORA DOUTORA FERNANDA MIORI
PASCON.

Piracicaba

2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2014/18961-0

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

N669a Nobrega, Thais dos Santos, 1992-
Análise comparativa da dentina coronária de dentes decíduos humanos e bovinos / Thais dos Santos Nobrega. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Fernanda Miori Pascon.

Coorientador: Alexsandra Shizue Iwamoto.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Dentina. 2. Microscopia eletrônica de varredura. 3. Dentes decíduos. I. Pascon, Fernanda Miori, 1977-. II. Iwamoto, Alexsandra Shizue, 1987-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações adicionais complementares

Palavras-chave em inglês:

Dentin

Scanning electron microscopy

Deciduous teeth

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 02-10-2017

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente à minha avó, Josefa Batista da Silva, por ter feito de mim o que sou, por ter sido a base da minha vida e por sempre ter acreditado em mim;

À minha mãe e ao meu pai, por estarem comigo em todos os momentos, me dando suporte;

À minha família, por tudo que representam;

Às minhas amigas Maria Freitas, que não tenho palavras pra descrever sua importância em toda essa jornada, e Camila Colagiovanni por tudo que já fizeram e significam para mim;

À Gabriellen e à Gabriela de Paula por todas as experiências que vivemos nesses últimos anos.

Dedico também, à professora Doutora Fernanda Miori Pascon por todos os ensinamentos, dedicação e ajuda e à Aleksandra Iwamoto pelo companheirismo e orientação exemplar.

Resumo

O objetivo nesse estudo foi verificar as diferenças estruturais e morfológicas da dentina coronária de dentes decíduos humanos e bovinos. Foram selecionadas coroas de dentes decíduos de acordo com os grupos (n=10): molares humanos, incisivos centrais superiores humanos e incisivos bovinos. As coroas foram seccionadas no sentido méso-distal, polidas com lixas de carboneto de silício, planificadas e analisadas em microscopia eletrônica de varredura. Os túbulos dentinários foram contados (por mm²) e os diâmetros mensurados utilizando o software Image J 1.47. Os resultados foram submetidos aos testes de normalidade Shapiro-Wilk, ANOVA e teste de Tukey ($\alpha=5\%$). Não foram observadas diferenças (quantidade e diâmetro dos túbulos) entre os substratos nas dentinas da câmara pulpar, profunda e média ($p>0,05$). Analisando a dentina superficial, observou-se que incisivos decíduos bovinos ($108,78\pm 32,76$) apresentaram menor quantidade de túbulos dentinários com diferença estatística para molares decíduos humanos ($156,67\pm 30,02$) e incisivos decíduos humanos ($146,53\pm 23,67$). Entretanto, incisivos e molares decíduos não apresentaram diferenças entre eles. Quanto ao diâmetro, na dentina profunda, observou-se que os incisivos decíduos bovinos ($2,58\pm 0,66$) apresentaram maior diâmetro de túbulos dentinários com diferença estatística para os molares decíduos humanos ($1,84\pm 0,47$) e incisivos decíduos humanos ($1,64\pm 0,52$). Concluiu-se que a estrutura da dentina coronária dos dentes decíduos humanos e bovinos é similar, quanto ao número de túbulos dentinários presentes na dentina, com exceção da dentina superficial e que a morfologia dos túbulos dentinários da dentina coronária, em relação ao diâmetro, apresentou-se também similar, independente do substrato, com exceção da dentina profunda.

Palavras chave: dentina, microscopia eletrônica de varredura, dente decíduo

Abstract

The aim of this study was to evaluate the structural and morphological differences in coronal dentin from human and bovine primary teeth. The crowns of primary teeth were selected according to the groups (n=10): molars human teeth, central incisor maxillary human teeth and incisor bovine teeth. The crowns were sectioned in the vestibular-lingual direction, polished with Sic papers, were planning and analyzed by scanning electron microscopy. The dentin tubules were counted (per mm²) and the dentin tubule diameter was measured using Image J 1.45 software. The results were submitted to Shapiro-Wilk, ANOVA and Tukey tests ($\alpha=5\%$). No differences (number and diameter) were observed between the substrates in the pulp chamber, deep and medium dentin ($p>0.05$). Concerning the superficial dentin, it was observed that bovine deciduous incisors (108.78 ± 32.76) had a smaller number of dentinal tubules with statistical difference for human deciduous molars (156.67 ± 30.02) and human deciduous incisors (146.53 ± 23.67). However, deciduous incisors and molars did not present differences between themselves. Considering the diameter, in the deep dentin, the bovine teeth (2.58 ± 0.66) showed higher diameter differing from the primary molars (1.84 ± 0.47) and incisors (1.64 ± 0.52). It could be concluded that primary and bovine teeth showed similar morphology except for superficial dentin. In addition, concerning the diameter, it was observed similarity between the substrates except for deep dentin.

Key words: dentin, scanning electron microscopy, primary teeth

SUMÁRIO

1 Introdução	8
2 Revisão da literatura	10
2.1 Uso de dentes bovinos nas pesquisas odontológicas	10
2.2 Avaliação estrutural de dentes humanos e bovinos	10
2.3 Comparação entre dentes bovinos e dentes humanos	11
3 Proposição	12
4 Material e métodos	13
4.1 Delineamento experimental	13
4.2 Obtenção e seleção da amostra	13
4.3 Preparo dos espécimes	14
4.4 Análise estatística	16
5 Resultados	17
5.1 Análise da quantidade de túbulos dentinários	17
5.2 Análise do diâmetro de túbulos dentinários	20
6 Discussão	23
7 Conclusão	26
Referências	27
Anexo 1	30
Anexo 2	31

1 INTRODUÇÃO

A utilização de dentes bovinos como substitutos de dentes humanos torna-se cada vez mais frequente nas pesquisas odontológicas. O emprego de dentes humanos na condução de estudos *in vitro* e *in situ* permitem que as hipóteses testadas em substratos sejam mais relevantes clinicamente (Yassen *et al.*, 2011). Entretanto, devido às dificuldades encontradas para obtenção de tamanho amostral apropriado com qualidade e muitas vezes impossibilidade de padronização dos dentes humanos (controle da fonte e idade), riscos de infecção e aspectos éticos envolvidos, estes tem sido substituídos por dentes bovinos nas pesquisas laboratoriais (Rueggeberg, 1991; Mellberg, 1992; Zero, 1995; Skene, 2002; Camargo *et al.*, 2007). Ainda, há a dificuldade de obtenção de dentes humanos hígidos devido à diminuição considerável da indicação de exodontias (Rüttermann *et al.*, 2013).

Dessa forma, dentes bovinos tem sido empregados como substitutos dos dentes humanos, pela disponibilidade e facilidade de serem obtidos, por apresentarem similaridade estrutural em nível macro e microscópico aos dentes humanos (Camargo *et al.*, 2007; Fonseca *et al.*, 2008; Laurence-Young *et al.*, 2011). Incisivos permanentes bovinos são frequentemente utilizados devido às semelhanças com incisivos centrais superiores humanos com relação ao tamanho e curvatura (Schilke *et al.*, 2000). Quanto aos incisivos decíduos bovinos, estes podem ser considerados similares em tamanho aos incisivos centrais superiores humanos e geralmente apresentam superfícies vestibulares mais lisas. Assim, observa-se na literatura estudos em relação a similaridades entre os dentes bovinos e humanos (Shilke *et al.*, 2000; Bonfim *et al.*, 2001).

Com relação à morfologia e dureza, uma revisão de literatura conduzida sobre a possibilidade de substituição dos dentes humanos por dentes bovinos demonstrou que o esmalte e a dentina dos dentes bovinos são possíveis substitutos de dentes humanos para a realização de pesquisas *in vitro* e *in situ* (Laurence-Young *et al.*, 2011). Entretanto, em outra revisão de literatura, os autores verificaram que ainda há lacunas no conhecimento com relação à validade da substituição de dentes humanos por bovinos em experimentos laboratoriais, sendo necessários mais estudos em relação à morfologia, composição química e propriedades físicas desses substratos (Yassen *et al.*, 2011).

A microestrutura dentinária e as propriedades mecânicas são fatores determinantes para os procedimentos restauradores e endodônticos, ou seja, o número e concentração de túbulos dentinários por milímetro quadrado, bem como a quantidade de dentina intra e intertubular, podem influenciar a resistência da união adesiva formada entre os materiais restauradores e a dentina (Marshall *et al.*, 1997; Marquezan *et al.*, 2009). Ainda, a dentina da câmara pulpar pode ter as propriedades estruturais e mecânicas afetadas durante o tratamento endodôntico, pela utilização de soluções irrigadoras e/ou medicamentos que podem interferir no sucesso do tratamento restaurador (Borges *et al.*, 2008; Pascon *et al.*, 2012; Nagpal *et al.*, 2013).

Assim, verifica-se a necessidade da condução de estudos analisando microscopicamente a dentina coronária de dentes decíduos humanos visando à substituição do substrato humano pelo bovino. Dessa forma, a utilização de dentes decíduos bovinos como substitutos de dentes decíduos humanos facilitaria a condução de estudos *in vitro* acerca de materiais restauradores, testes de permeabilidade, soluções irrigadoras e de adesão, tanto nas dentinas superficial, média, profunda e da câmara pulpar.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Uso de dentes bovinos nas pesquisas odontológicas

Segundo Lopes *et al.* (2009) a dificuldade em obter dentes humanos fez com que se tornasse necessária a utilização de substratos de esmalte e dentina alternativos. Pesquisadores passaram a utilizar dentes de outros mamíferos, como dentes bovinos, ovinos, equinos e suínos para se obter quantidade suficiente de substrato que pudessem ser utilizados nas pesquisas *in vitro* e *in situ*.

Ghaeth *et al.* (2011) afirmam que por serem mais fáceis de adquirir em boas condições e em grandes quantidades, o dente bovino vem sendo o mais usado para substituir o dente humano em estudos odontológicos. Normalmente os dentes bovinos não são comercializados e acabam por ser descartados nos próprios frigoríficos. Além da facilidade de aquisição, o dente bovino possui uma superfície relativamente grande e não possui lesões de cáries e outros defeitos que possam afetar os resultados das pesquisas (Ghaeth *et al.*, 2011).

2.2 Avaliação estrutural de dentes humanos e bovinos

Angker *et al.* (2003) afirmam que dependendo da posição em que estão localizadas dentro do dente decíduo, as propriedades mecânicas da dentina se alteram e quanto menor a distância entre a dentina e a polpa, menor a dureza e o módulo de elasticidade da dentina. Essa diferença no desempenho mecânico provavelmente se dá pela diferença na estrutura histológica e na quantidade de material inorgânico das partes da dentina. Os autores afirmam ainda que isso é de grande importância em procedimentos clínicos, pois pode influenciar no material escolhido para restauração em cavidades mais profundas e na quantidade de remoção de tecido dentinário em relação à distância com a polpa.

Segundo Borges *et al.* (2008), a estrutura dos dentes decíduos é diferente da dos dentes permanentes, sendo que o primeiro possui uma espessura menor de dentina e uma câmara pulpar proporcionalmente maior. Entretanto em dentes decíduos os estudos são escassos e há lacunas no conhecimento sobre as diferenças entre os substratos.

Quanto aos dentes bovinos, Lopes *et al.* (2009) afirmam que estes possuem grandes túbulos dentinários e grande porosidade nos incisivos.

2.3 Comparação entre dentes bovinos e dentes humanos

Shilke *et al.* (2000) numa análise comparativa da quantidade e diâmetro dos túbulos dentinários de dentes humanos e bovinos em microscopia eletrônica de varredura (MEV) verificaram que a dentina da porção coronária de incisivos bovinos permanentes são adequados para a substituição da dentina humana em estudos de adesão. Ainda, Bonfim *et al.* (2001) constataram que assim como nos dentes humanos, os dentes bovinos possuem maior número de túbulos dentinários próximo à polpa, porém a densidade de túbulos dentinários apresenta-se mais elevada na porção coronária da dentina bovina do que na dentina humana. Entretanto, Lopes *et al.* (2009) verificaram que a quantidade de túbulos dentinários da porção coronária da dentina humana apresentava-se maior que a da dentina bovina, independentemente da região analisada (superficial, média e profunda), concluindo que há diferença na estrutura e a morfologia tubular da dentina humana e bovina, sendo que a dentina bovina deve ser utilizada com cautela nos estudos de adesão.

Soares *et al.* (2014) verificaram que a dentina de molares humanos e dentes anteriores bovinos não apresentaram diferenças quanto à composição mineral (cálcio, fosfato e relação cálcio/fosfato), demonstrando uma distribuição homogênea dos elementos analisados. Entretanto, a camada adesiva e os *tags* resinosos mostraram-se menores na dentina bovina do que a humana. Os autores relatam que isso ocorre devido às diferenças morfológicas entre os substratos estudados.

Com relação aos dentes decíduos, Puppim-Rotani & Caldo-Teixeira (2001) demonstraram que o condicionamento com ácido fosfórico a 35% na superfície dentinária de dentes decíduos humanos e bovinos permitiu revelação dos túbulos, remoção total da *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários, apresentando morfologia similar entre os túbulos. Costa *et al.* (2015) numa análise comparativa da dentina radicular de dentes decíduos humanos e bovinos, verificou que os dentes bovinos apresentaram maior quantidade de números de túbulos dentinários, no entanto, o diâmetro dos túbulos apresentou-se similar para os dentes humanos e bovinos, independente da área analisada (terço cervical, médio e apical).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo neste estudo foi analisar as diferenças estruturais e morfológicas entre os substratos da dentina coronária de dentes decíduos bovinos e humanos por meio de MEV.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

Os fatores de estudo foram: tipos de substratos - dentina coronária de dentes decíduos humanos (molares e incisivos centrais superiores) e dentina coronária de dentes decíduos bovinos (incisivos). A amostra foi constituída de 30 dentes distribuídos em cada grupo experimental (n=10). As variáveis de respostas foram diâmetro e quantidade dos túbulos dentinários analisados por meio de MEV.

4.2 Obtenção e Seleção da amostra

Os dentes decíduos humanos obtidos e selecionados para a execução da pesquisa encontravam-se na faixa etária de 3 a 9 anos de idade e foram doados conforme aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (Anexo 1). Como critério de inclusão, os dentes deveriam apresentar-se hígidos e com até dois terços de reabsorção radicular. E os critérios de exclusão foram dentes cariados, restaurados e/ou com terapia pulpar e presença de fratura na porção coronária.

Em relação aos dentes decíduos bovinos, estes deveriam apresentar-se hígidos e com pouco desgaste fisiológico na região incisal.

Após a extração, os dentes foram armazenados em solução timol 0,1% até a limpeza. A limpeza foi realizada com curetas periodontais para a remoção do tecido ósseo e periodontal. Em seguida, os dentes foram armazenados em soro fisiológico a 0,9% a 4°C.

Foram selecionadas 10 coroas de molares decíduos humanos (A), 10 coroas de incisivos centrais superiores decíduos humanos (B) e 10 coroas de incisivos decíduos bovinos (C), sendo um total de 30 dentes extraídos (20 humanos e 10 bovinos) (Quadro 1; Figura 1).

Quadro 1 - Distribuição da amostra de acordo com os grupos e substratos que foram estudados.

GRUPOS	SUBSTRATO		
	Dentina Humana		Dentina Bovina
A - Molares decíduos humanos	10	-	-
B - Incisivos decíduos humanos	-	10	-
C - Incisivos decíduos bovinos	-	-	10
Total	10	10	10

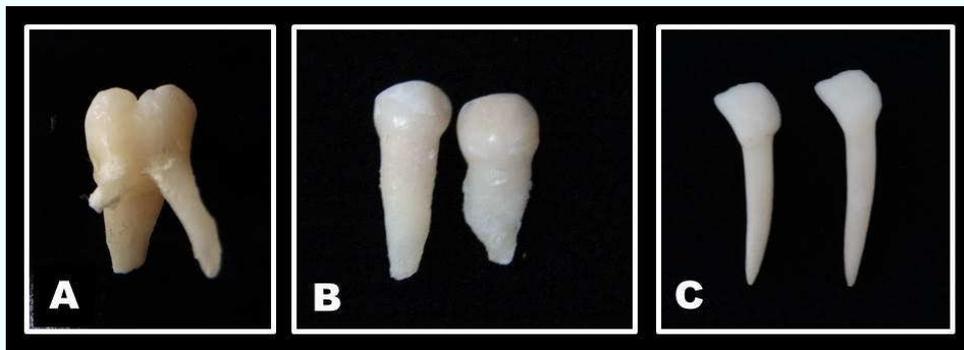


Figura 1 - (A) Molar decíduo humano; (B) Incisivos decíduos humanos; (C) Incisivos decíduos bovinos.

4.3 Preparo dos espécimes

Os dentes decíduos selecionados foram seccionados horizontalmente na junção cimento-esmalte com disco diamantado dupla-face (KG Sørensen) para remoção das raízes, sendo estas descartadas. Em seguida, as coroas foram marcadas com lápis grafite no sentido méso-distal e seccionadas com disco diamantado dupla-face neste sentido, formando duas metades. A polpa dentária foi totalmente removida com o auxílio de uma cureta de dentina e lima tipo K-file #15 (Figura 2).

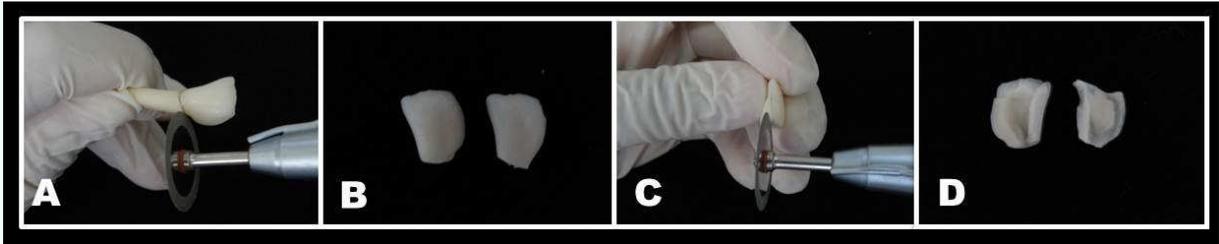


Figura 2 - (A) Secção longitudinal na junção cimento-esmalte do dente decíduo bovino; (B) Coroas dos dentes decíduos bovinos; (C) Secção longitudinal no sentido méso-distal do dente decíduo bovino; (D) Coroa do dente decíduo bovino seccionado em duas metades.

A metade vestibular de cada coroa foi fixada em placa de acrílico com cera pegajosa e seccionados com disco de corte diamantado Buehler acoplado na cortadeira metalográfica (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA), obtendo-se blocos de dentina de 4x4mm da região central da câmara pulpar. Em seguida, os blocos de dentina obtidos foram fixados em placa de acrílico com cera pegajosa e seccionados com disco de corte diamantado Buehler acoplado na cortadeira metalográfica (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA), obtendo-se espécimes de 0,5mm a partir da câmara pulpar até o esmalte da amostra (Figura 3). Assim, confeccionando-se espécimes de dentina superficial, média, profunda e da câmara pulpar. A outra metade palatina foi armazenada em água deionizada.

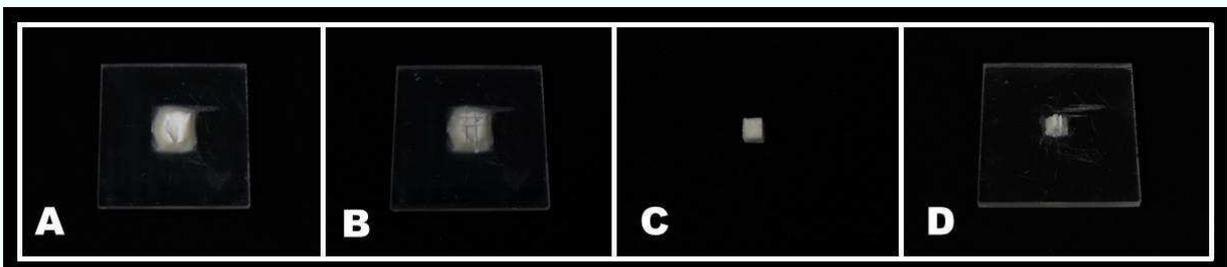


Figura 3 - (A) Coroa do dente decíduo bovino fixado em placa de acrílico com cera pegajosa; (B) Coroa de dente bovino seccionado; (C) Bloco de dentina de 4x4mm; (D) Bloco de dentina seccionado de 0,5mm a partir da câmara pulpar até o esmalte da amostra.

Os espécimes de dentina da porção superficial, média e profunda foram polidos manualmente com lixas de carboneto de silício em granulação (#P4000) sob irrigação constante. Em seguida, os espécimes foram colocados em ultrassom com água deionizada por 30 minutos para remoção de resíduos e da *smear layer*

formada. Os espécimes de dentina foram fixados em *stub* por fita carbono dupla-face (Figura 4) e armazenados em estufa a 37°C, em sílica gel por 24 horas.



Figura 4 - (A) Polimento do espécime de dentina; (B) Espécimes de dentina imersos em água deionizada; (C) Aparelho de ultrassom utilizado para remoção de impurezas dos espécimes; (D) Espécimes fixados em *stub* por fita carbono dupla-face.

Depois desse período, as amostras foram cobertas com fina camada de ouro pelo processo de metalização no aparelho Balzers (SCD 050 sputter coater, Balzers Union Aktiengesellschaft, Fürstentum Liechtenstein) a 40 mA por 120s para serem analisadas em MEV(JEOL, JSM – 5600 LV, Scanning Electron Microscope, Tokyo, Japan).

A visualização em MEV foi realizada em cada espécime de dentina nas porções superficial, média e profunda e câmara pulpar em aumento de 1000x para a contagem dos túbulos dentinários por mm² e 5000x para a mensuração do diâmetro dos túbulos dentinários. Dessa maneira, obtiveram-se três imagens de cada espécime no aumento de 1000x e 5000x e estas foram analisadas pelo software *Image J 1.47* (NIH, Bethesda, EUA), o qual possibilita a contagem e a mensuração dos túbulos dentinários de forma padronizada.

4.4 Análise estatística

Os dados obtidos pela contagem e mensuração dos túbulos dentinários foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($\alpha=5\%$). Como os dados apresentaram distribuição normal ($p>0,05$), estes foram submetidos à ANOVA um critério e o teste de Tukey para a comparação entre os grupos ao nível de significância de 5%. Os dados foram analisados por meio do programa Bioestat 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá - Tefé, AM, Brasil).

5 RESULTADOS

5.1 Análise da quantidade de túbulos dentinários

De acordo com os resultados da análise estatística, não foram observadas diferenças entre os substratos na dentina da câmara pulpar ($p < 0,05$), dentina profunda ($p < 0,05$) e dentina média ($p < 0,05$). Para a dentina superficial, observou-se que os incisivos decíduos bovinos ($108,78 \pm 32,76$) apresentaram a menor quantidade de túbulos dentinários com diferença estatística para os molares decíduos humanos ($156,67 \pm 30,02$) e incisivos decíduos humanos ($146,53 \pm 23,67$). Entretanto, incisivos e molares decíduos não apresentaram diferenças entre eles (Tabela 2).

Imagens representativas dos diferentes substratos (molares e incisivos decíduos humanos e incisivos decíduos bovinos) nas diferentes profundidades dentinárias (câmara pulpar, dentina profunda, média e superficial) estão apresentadas na Figura 5. Analisando-se as imagens, pode-se observar que o somente em dentina superficial o substrato bovino apresenta menor quantidade de túbulos dentinários quando em comparação aos dentes humanos.

Tabela 2 - Média e desvio padrão da quantidade de túbulos dentinários de acordo com os diferentes substratos e profundidades de dentina.

	Dentina da câmara pulpar			Dentina profunda			Dentina média			Dentina superficial		
Molares decíduos humanos	237,20	±154,13	A	160,13	±78,99	A	161,48	±66,98	A	156,67	±30,02	A
Incisivos decíduos humanos	269,43	±64,10	A	187,00	±42,81	A	146,53	±23,67	A	146,53	±23,67	A
Incisivos decíduos bovinos	337,37	±77,62	A	178,15	±41,42	A	131,13	±61,29	A	108,78	±32,76	B

Letras maiúsculas iguais significam ausência de diferença estatística entre os substratos dentários demonstrados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

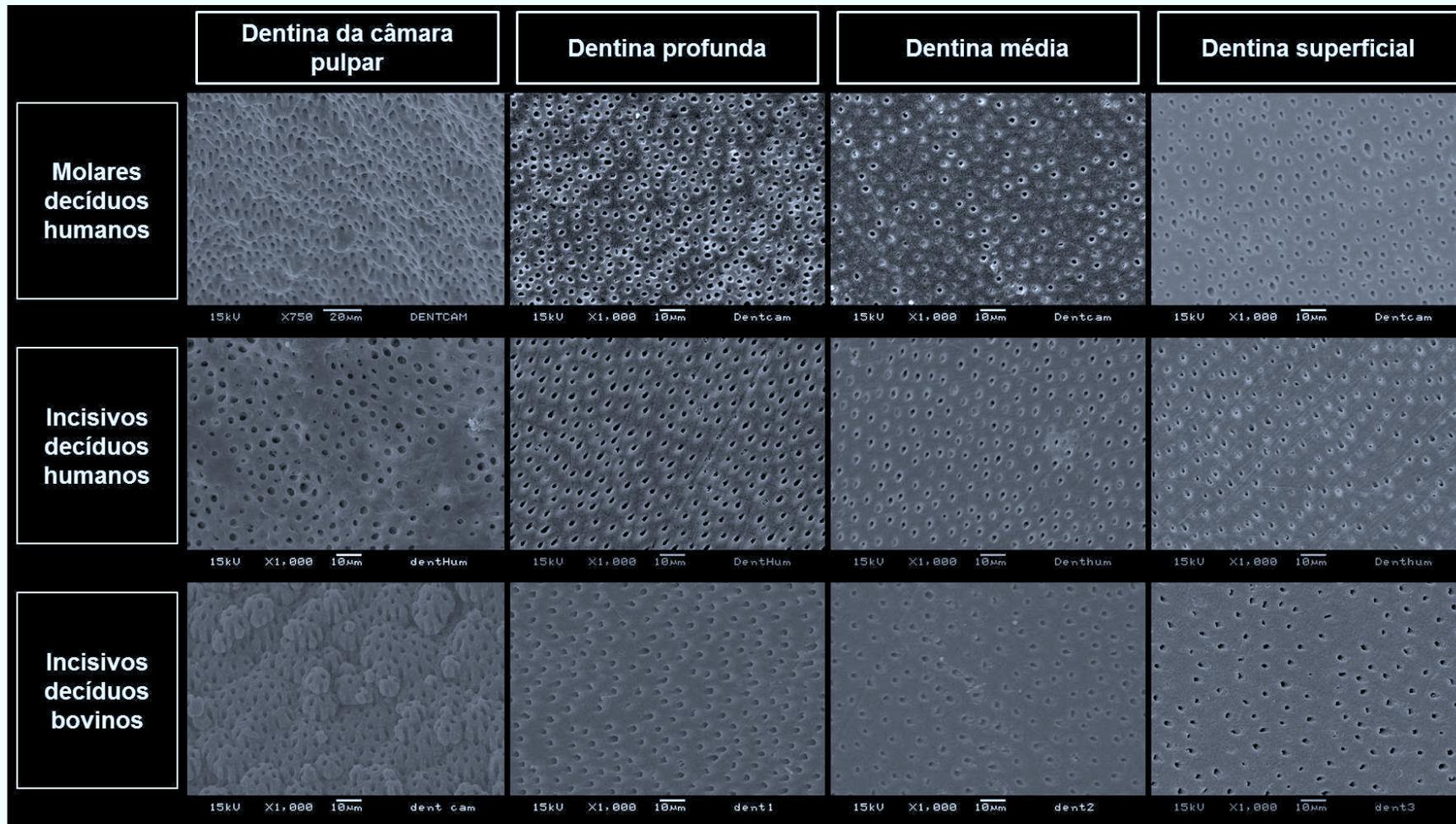


Figura 5 - Imagens representativas obtidas em MEV (1000X) dos substratos humanos e bovinos nas diferentes dentinas.

5.2 Análise do diâmetro de túbulos dentinários

De acordo com os resultados da análise estatística não foram observadas diferenças entre os substratos na dentina da câmara pulpar, dentina média e dentina superficial ($p > 0,05$). Para a dentina profunda, observou-se que os incisivos decíduos bovinos ($108,78 \pm 32,76$) apresentaram maior diâmetro de túbulos dentinários com diferença estatística para os molares decíduos humanos ($156,67 \pm 30,02$) e incisivos decíduos humanos ($146,53 \pm 23,67$) (Tabela 3).

Imagens representativas dos diferentes substratos (molares e incisivos decíduos humanos e incisivos decíduos bovinos) nas diferentes profundidades dentinárias (câmara pulpar, dentina profunda, média e superficial) estão apresentadas na Figura 6. Analisando-se as imagens, pode-se observar que o somente em dentina profunda o substrato bovino apresenta maiores diâmetros de túbulos dentinários quando em comparação aos substratos humanos.

Tabela 3 - Média e desvio padrão do diâmetro de túbulos dentinários de acordo com os diferentes substratos e profundidades de dentina.

	Dentina da câmara pulpar			Dentina profunda			Dentina média			Dentina superficial		
Molares decíduos humanos	2,24	± 0,27	A	1,84	± 0,47	B	1,47	± 0,23	A	1,43	± 0,43	A
Incisivos decíduos humanos	2,14	± 0,49	A	1,64	± 0,52	B	1,44	± 0,26	A	1,44	± 0,26	A
Incisivos decíduos bovinos	2,38	± 0,41	A	2,59	± 0,66	A	1,82	± 0,50	A	1,59	± 0,54	A

Letras maiúsculas iguais significam ausência de diferença estatística entre os substratos dentários demonstrados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

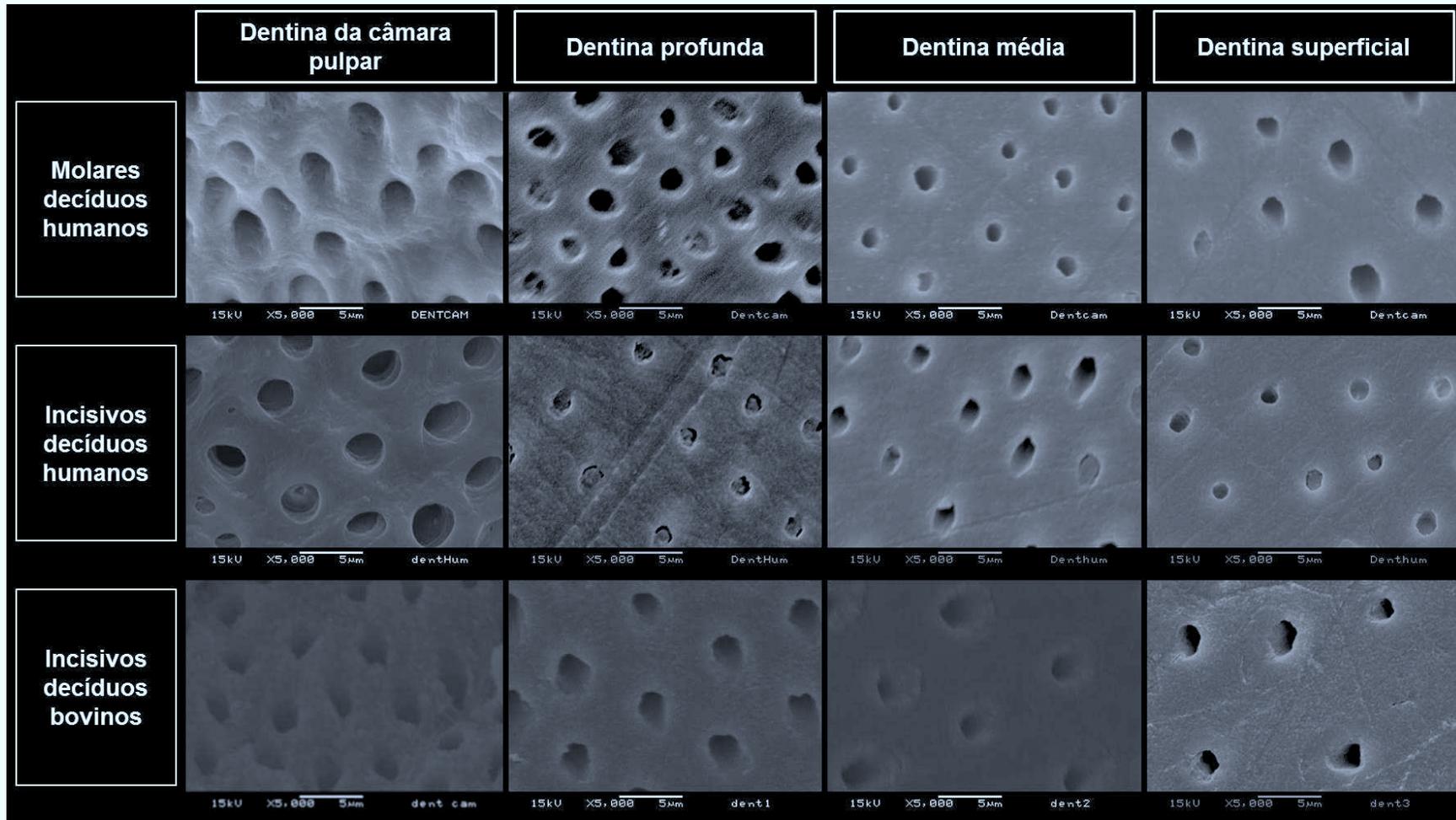


Figura 6 - Imagens representativas obtidas em MEV (5000X) dos substratos humanos e bovinos nas diferentes dentinas.

6 DISCUSSÃO

Diante dos resultados obtidos, verificou-se que somente a quantidade de túbulos dentinários na dentina superficial, e diâmetro dos túbulos dentinários, na dentina profunda apresentaram diferenças entre os substratos decíduos humanos (molares e incisivos) e bovinos (incisivos).

A dentina é um tecido mineralizado à base de colágeno que constitui a maior parte da estrutura dental (Lenzi *et al.*, 2013), sendo considerada uma estrutura complexa, constituindo-se de 70% de matéria inorgânica, 18% de matéria orgânica e 12% de água, sendo que mais de 90% da matéria orgânica é colágeno. A estrutura dentinária é composta de matriz peri e intertubular mineralizada, túbulos dentinários que são preenchidos pelos prolongamentos odontoblásticos e matéria orgânica do espaço perio-odontoblástico (Marshall *et al.*, 1997; Tjäderhane *et al.*, 2013).

As análises de quantificação e mensuração de túbulos dentinários presentes na dentina coronária são características estruturais e morfológicas importantes para verificar-se a permeabilidade de soluções e adesão de materiais restauradores. Na dentina, a permeabilidade intrínseca é responsável por permitir a difusão de bactérias ou substâncias químicas através da dentina e irritar tecidos pulpare e perirradiculares (Koutsi *et al.*, 1994).

Nesse estudo, verificou-se similaridade na estrutura da dentina coronária entre os substratos humanos e bovinos, com exceção da dentina superficial, o que possibilita a substituição dos substratos humanos pelos bovinos nas análises de adesão de materiais restauradores, principalmente na formação da camada híbrida. A camada híbrida é formada pela difusão do sistema adesivo na dentina intratubular e principalmente na dentina intertubular, onde ocorre a melhor adesão do material restaurador ao substrato dentinário (Marshall *et al.*, 1997; Tjäderhane *et al.*, 2013). Sabe-se que a resistência da união entre o material restaurador e a dentina é afetada pelo diâmetro e número de túbulos dentinários por mm^2 , assim como a quantidade relativa da dentina intertubular e intratubular (Marshall *et al.*, 1997). Como nesse estudo verificou-se que somente a dentina superficial apresentou menor quantidade de túbulos dentinários no substrato bovino, provavelmente apresentando uma maior quantidade de dentina intertubular em relação ao substrato humano, o que poderia ocasionar a maiores valores de resistência da união.

Além disso, verificou-se que a morfologia dos túbulos dentinários é similar entre os substratos decíduos humanos e bovinos nas diferentes dentinas, com

exceção da dentina profunda. Essa semelhança na morfologia encontrada entre os substratos também possibilita a substituição do substrato humano pelo bovino nas análises de permeabilidade de soluções e adesivos e na formação de tecido cariado. Entretanto, na dentina profunda, estas análises devem ser utilizadas com cautela, pois o maior diâmetro encontrado no substrato bovino poderia ocasionar uma maior permeabilidade de soluções e adesivos, além de ter uma rápida formação de tecido cariado pela maior difusão das substâncias no túbulo dentinário.

A similaridade encontrada tanto na estrutura, como na morfologia da dentina coronária está de acordo com o estudo prévio de Schilke *et al.* (2000). Entretanto, no estudo de Schilke *et al.* (2000) o substrato bovino utilizado foi o permanente, diferentemente do presente estudo que avaliou dente decíduo e as dentinas analisadas foram profundas e médias, o que poderia explicar a diferença encontrada em nosso estudo na estrutura da dentina superficial e morfologia da dentina profunda. No entanto, Lopes *et al.* (2009) relata diferenças entre os substratos bovinos e humanos, com exceção para o diâmetro da dentina profunda. Provavelmente essa diferença pode ser explicada pelo substrato analisado também ser permanente, tanto para o bovino quanto para o humano. Ainda, Schilke *et al.* (2000) e Lopes *et al.* (2009) utilizaram soluções para a remoção da *smear layer* e exposição dos túbulos dentinários (0,27M de EDTA e 0,34M de hipoclorito de sódio e ácido fosfórico a 37%, respectivamente). No presente estudo não foram utilizadas soluções, somente a limpeza com ultrassom para a remoção dos resíduos provenientes do corte e *smear layer*. As soluções, como hipoclorito de sódio e ácido fosfórico, podem interferir na avaliação dos substratos humanos e bovinos, pois atuam na dissolução do conteúdo orgânico e desmineralização do conteúdo inorgânico presentes na dentina (Puppin-Rontani & Caldo-Teixeira, 2003).

Em relação à dentina da câmara pulpar, verifica-se que na literatura ainda não há estudos comparativos entre o substrato decíduo bovino e humano, o que dificulta a comparação dos resultados obtidos com a literatura e a extrapolação dos mesmos. Assim, as similaridades estruturais e morfológicas da dentina coronária encontradas nos substratos humanos e bovino são importantes para a condução de novos estudos em relação à permeabilidade dentinária, formação de tecido cariado e união adesiva das restaurações finais. Apesar das diferenças encontradas na estrutura da dentina superficial e na morfologia da dentina profunda entre dentes humanos e bovinos, sugere-se que a substituição do substrato humano pelo bovino

pode ser realizada, mas deve ser avaliada com cautela, uma vez que estudos adicionais devem ser conduzidos acerca da composição química e comportamento mecânico da dentina.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

✓ A estrutura da dentina coronária dos dentes decíduos humanos e bovinos apresentou-se similar, quanto ao número de túbulos dentinários presentes na dentina, com exceção da dentina superficial.

✓ A morfologia dos túbulos dentinários da dentina coronária, em relação ao diâmetro, apresentou-se também similar, independente do substrato, com exceção da dentina profunda.

REFERÊNCIAS

Angkera L, Michael V, Swaina B, Kilpatrickc N. Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. *J Dent*. 2003 May;31(4):261-7.

Bonfim MDC, Anauate Netto C, Kuchinski FB, Youssef MN, Carmo ARP. Comparative micromorphological study of human and bovine dentine. *J Dent Res*. 2001;80:1081.

Borges AF, Bittar RA, Pascon FM, Sobrinho LC, Martin AA, Puppim Rontani RM. NaOCl effects on primary and permanent pulp chamber dentin. *J Dent*. 2008;36:745-53.

Camargo CH, Siviero M, Camargo SE, de Oliveira SH, Carvalho CA, Valera MC. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod*. 2007; 33:422-6.

Costa BM, Iwamoto AS, Puppim-Rontani RM, Pascon FM. *Microsc Microanal*. 2015 Jun;21(3):689-94.

Fonseca RB, Haiter-Neto F, Carlo HL, Soares CJ, Sinhoreti MA, Puppim-Rontani RM, Correr-Sobrinho L. Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine teeth age. *Arch Oral Biol*. 2008;53:1023-9.

Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent*. 1994 Jan-Feb;16(1):29-35.

Laurance-Young P, Bozec L, Gracia L, Rees G, Lippert F, Lynch RJ, Knowles JC. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behavior in relation to erosive challenge and remineralization. *J Dent*. 2011; 39:266-72.

Lenzi TL, Guglielmi Cde A, Arana-Chavez VE, Raggio DP. Tubule density and diameter in coronal dentin from primary and permanent human teeth. *Microsc Microanal*. 2013 Dec;19(6):1445-9.

Lopes MB, Sinhoreti MA, Gonini Júnior A, Consani S, McCabe JF. Comparative study of tubular diameter and quantity for human and bovine dentin at different depths. *Braz Dent J*. 2009;20:279-83.

Marquezan M, Corrêa FN, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, Mendes FM. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol.* 2009 Dec;54(12):1111-7.

Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.* 1997; 25:441–58.

Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res.* 1992;71: 913-9.

Nagpal R, Manuja N, Pandit IK. Effect of proanthocyanidin treatment on the bonding effectiveness of adhesive restorations in pulp chamber. *J Clin Pediatr Dent.* 2013;38:49-53.

Pascon FM, Kantovitz KR, Soares LE, Santo AM, Martin AA, Puppini-Rontani RM. Morphological and chemical changes in dentin after using endodontic agents: fourier transform Raman spectroscopy, energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry, and scanning electron microscopy study. *J Biomed Opt.* 2012; 17:075008.

Puppini-Rontani RM, Caldo-Teixeira AS. Effect of sodium hypochlorite on the different substrates - a SEM analyses. *Acta Microsc.* 2003;12:169-73.

Rueggeberg FA. Substrate for adhesion testing to tooth structure - review of the literature. *Dent Mater.* 1991;7: 2-10.

Rüttermann S, Braun A, Janda R. Shear bond strength and fracture analysis of human vs. bovine teeth. *PLoS One.* 2013;8:e59181.

Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* 2000;45:355-61.

Silva Soares LE, do Espírito Santo AM. Morphological and chemical comparative analysis of the human and bovine dentin-adhesive layer. *Microsc Microanal.* 2015 Feb;21(1):204-13.

Skene L. Ownership of human tissue and the law. *Nat Rev Genet.* 2002;3:145-8.

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho M, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Strategies to

prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review. *Dent Mater.* 2013; 29(10):999-1011.

Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011;53:273-82.

Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res.* 1995;9:214-30.

Anexo 1 - Certificado Comitê de Ética em Pesquisa da FOP - Unicamp

	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	
CERTIFICADO		
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Análise comparativa da morfologia dentinária radicular de dentes decíduos humanos e bovinos", protocolo CAAE nº 19887613.0.0000.5418, dos pesquisadores Bruna Massoni Costa, Alexandra Shizue Iwamoto e Fernanda Miori Pascon, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 11 de Junho de 2014.</p>		
<p>The Ethics Committee in Research of the Piracicaba Dental School, University of Campinas, certify that the project "<i>Comparative analysis of root dentin morphology of human vs bovine primary teeth</i>", CAAE 56615116.1.0000.5418, of Polyane Mazucatto Queiroz, Stefani Marzola de Souza Bueno, Felipe Nogueira Anacleto and Deborah Queiroz de Freitas, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee on June 11, 2014.</p>		
		
Prof. Fernanda Miori Pascon	Prof. Jacks Jorge Junior	
<small>Vice Coordenador CEP/FOP/UNICAMP</small>	<small>Coordenador CEP/FOP/UNICAMP</small>	
<small>Nota: O título do protocolo e a lista de autores aparece como fornecidos pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title and the list of researchers of the project appears as provided by the authors, without editing.</small>		

Anexo 2

Comprovante da concessão da bolsa de Iniciação Científica – FAPESP e aprovação do relatório final

Consulta de Despachos			
Para consultar o despacho selecione o link sobre a sua divulgação.			
Processo	2014/18961-0		
Linha de Fomento	Programas Regulares / Bolsas / No País / Iniciação Científica - Fluxo Contínuo		
Situação	Encerrado		
Vigência	01/11/2014 a 31/10/2015		
Beneficiário	Thais dos Santos Nobrega  		
Responsável	Fernanda Miori Pascon   		
Vínculo Institucional do Processo	Faculdade de Odontologia de Piracicaba/FOP/UNICAMP		
Despachos			
Situação	Emissão ▼	Objeto de Análise	Resultado
Divulgado	06/11/2014	Proposta Inicial	Concedido
Divulgado	23/04/2015	Relatório Científico 1	Aprovado
Divulgado	03/12/2015	SM 001 - Renovação de Bolsa	Cancelado
Divulgado	03/02/2016	SM 002 - Renovação de Bolsa	Denegado
		Relatório Científico 2	Aprovado
<input type="button" value="Fechar"/>			