

UNIVERSIDADE DE UBERABA
MESTRADO ACADÊMICO EM ODONTOLOGIA
PRICILA SOUZA NAVES

**COMPARAÇÃO DOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS E QUÍMICOS DE ESMALTE E
DENTINA DE DENTES BOVINOS DECÍDUOS E PERMANENTES**

UBERABA – MG

2019

PRICILA SOUZA NAVES

**COMPARAÇÃO DOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS E QUÍMICOS DE ESMALTE E
DENTINA DE DENTES BOVINOS DECÍDUOS E PERMANENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia– Mestrado Acadêmico da Universidade de Uberaba, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de concentração em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador(a): Profa. Dra. Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira

UBERABA – MG

2019

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

N229c Naves, Pricila Souza.
Comparação dos aspectos morfológicos e químicos de esmalte e dentina de dentes bovinos decíduos e permanentes / Pricila Souza Naves. – Uberaba, 2019.
69 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área Clínica Odontológica Integrada.
Orientadora: Profa. Dra. Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira.

1. Dentes decíduos – Bovino. 2. Esmalte dentário. 3. Dentina. I. Oliveira, Maria Angélica Hueb de Menezes. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área Clínica Odontológica Integrada. III. Título.

CDD 617.6

PRICILA SOUZA NAVES

“COMPARAÇÃO DOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS E QUÍMICOS DE ESMALTE E DENTINA DE DENTES BOVINOS DECÍDUOS E PERMANENTES”

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Mestrado da Universidade de Uberaba.

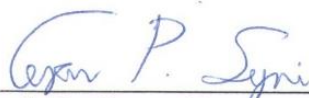
Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

Aprovado (a) em: 03/05/2019

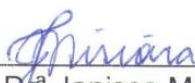
BANCA EXAMINADORA:



Prof^a. Dr^a Maria Angélica H. de Menezes Oliveira.
Orientadora
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri
Universidade de Uberaba



Prof^a. Dr^a Janisse Martinelli de Oliveira Misiara
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

DEDICATÓRIA

Dedico, primeiramente, aos meus pais, Edmar Naves Pereira e Leila Márcia Alves de Souza Naves, que estiveram comigo em toda minha trajetória de vida e não mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

Ao meu irmão, Renan Souza Naves, pelo apoio e incentivo nesta caminhada.

Ao meu noivo, Bruno Guimarães Castro, pelo apoio, compreensão, amor, carinho e incentivos diários.

Aos meus colegas do mestrado que me ajudaram e estiveram presentes sempre que possível.

Aos professores do mestrado, especialmente a minha orientadora Dra. Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira, por orientar todo este trabalho com muita paciência e competência.

E, em especial a Deus, que é meu guia maior, que me rege em toda a jornada da vida, protegendo e orientando em todos os momentos e escolhas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me proporcionar as alegrias da vida, iluminar meu caminho e dar forças para a realização de todos os trabalhos.

Aos meus pais, Edmar Naves Pereira e Leila Márcia Alves de Souza Naves, que sempre acreditaram, incentivaram e auxiliaram as minhas decisões pessoais e profissionais.

Ao meu irmão, Renan Souza Naves, pela amizade, carinho e companheirismo.

Ao meu noivo Bruno Guimarães Castro que sempre esteve ao meu lado com amor e apoio incondicional.

À Universidade de Uberaba, através do Magnífico Reitor Dr. Marcelo Palmério.

A Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão da Universidade de Uberaba, na pessoa do Pró-Reitor Prof. Dr. André Luís Teixeira Fernandes.

Ao coordenador do Curso de Mestrado Dr. Cesar Penazzo Lepri pelos ensinamentos e atenção nos momentos que precisei.

À minha orientadora, Dra. Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira, que me proporcionou um crescimento pessoal e profissional. Você é um exemplo de profissional determinada, dedicada e competente. Obrigada pela confiança depositada em mim.

A Flávia, secretária do Curso de Pós-Graduação da Universidade de Uberaba, pela competência e dedicação.

Ao Marcelo Hermeto, técnico do Laboratório, pelo compromisso e ajuda no laboratório.

À Faculdade de Odontologia FORP/USP (Ribeirão Preto), através das professoras Dra. Regina Guenka Palma-Dib e Dra. Juliana Jendiroba Faraoni, pela disponibilização do laboratório.

Agradeço as amigas que o mestrado me proporcionou, em especial, Leandro de Castro Santos, Michelle Egle Torres Silva, Dinekelly Arantes Oliveira, pelas experiências trocadas, carinho, companheirismo e paciência nos momentos difíceis.

À Michelle Gomides Dumont Campos pelo companheirismo e ajuda.

Agradeço aos professores que, durante o curso, proporcionaram muitos aprendizados e crescimento.

A todos, muito obrigada.

RESUMO

Atualmente, os dentes bovinos são os mais utilizados em estudos *in vitro*. Pela facilidade de obtenção, os dentes bovinos são os mais frequentes utilizados pelos pesquisadores. Os dentes incisivos são os mais utilizados, por serem encontrados hígidos em grande número. Sabe-se da similaridade dos dentes bovinos e humanos, através de estudos morfológicos, porém, há uma escassez de estudos comparativos sobre tecidos dentários dos diferentes tipos de dentes bovinos. Em grande parte dos estudos, utiliza-se os dentes bovinos permanentes, tornando os estudos com os dentes decíduos ainda carentes de metodologias padrões para um melhor entendimento morfológico. Neste estudo, avaliamos e comparamos *in vitro*, a microestrutura e a composição mineral do esmalte e da dentina de dentes bovinos decíduos e permanentes. Dentes incisivos bovinos decíduos e permanentes foram selecionados e distribuídos aleatoriamente, de acordo com o método de análise dos substratos utilizado: Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raio X (EDS), e Perfilometria 3D. Foi realizada comparação qualitativa e quantitativa da estrutura dental. A quantidade relativa dos íons cálcio (Ca) e fósforo (P) foi determinada por meio de EDS. A perfilometria foi utilizada para a visualização da superfície do esmalte e da dentina dos dentes bovinos, decíduos e permanentes. Estatisticamente, não houve diferença significativa na porcentagem de Ca e P do esmalte e da dentina dos dentes decíduos e permanente. Na análise morfológica superficial do esmalte e da dentina dos dentes bovinos, foi observada semelhança nas superfícies dos dentes bovinos decíduos e permanentes. O percentual de Ca e P, tanto na dentina quanto no esmalte dos dentes bovinos analisados são, proporcionalmente, similares ao percentual destes mesmos elementos relatados, na literatura, em dentes humanos. Baseado no presente estudo, conclui-se que: a similaridade dos compostos químicos permite o estudo *in vitro* de tecidos dentários bovinos em substituição aos tecidos dentários humanos de difícil extração; a morfologia do esmalte e da dentina dos dentes bovinos decíduos e permanentes apresentaram semelhança no perfil topográfico superficial analisado. Com isso, novos estudos morfológicos comparativos, entre dentes bovinos e dentes humanos, devem ser realizados a fim de avaliar melhor as semelhanças e diferenças dos diferentes tecidos.

Palavras-chave: Dentes decíduos bovinos; Dentes permanentes bovinos; EDS, Perfilometria.

ABSTRACT

Currently, animal teeth are the most used in “in vitro” studies. Because of the ease of obtaining, the bovine teeth are the most frequent used by the researchers and indicated by the ethics committee. The incisors are the most used, because they are found in large numbers. It is known the similarity of bovine and human teeth through morphological studies, however, there is a lack of comparative studies on dental tissues of different types of bovine teeth. In large part of the studies, permanent bovine teeth are used, making deciduous teeth still lacking standard methodologies for a better morphological study. In this study, we evaluated and compared in vitro, the microstructure and mineral composition of enamel and dentin of deciduous and permanent bovine teeth. Primary and permanent bovine incisor teeth were selected and randomly distributed in groups according to the method of substrate analysis: X-ray Dispersive Energy Spectroscopy (EDS) and 3D Profilometry. Qualitative and quantitative comparison of dental structure was performed. The amount of calcium (Ca) and phosphorus (P) ions was determined by means of EDS. The profilometry was used to visualize the enamel and dentin surfaces of bovine, deciduous and permanent teeth. Statistically, there was no significant difference in the percentage of Ca and P of the enamel and dentin of deciduous and permanent teeth. In the superficial morphological analysis of the enamel and dentine of the bovine teeth, a similarity was observed in the surfaces of the deciduous and permanent bovine teeth. The percentage of Ca and P in both dentin and enamel of the analyzed bovine teeth are proportionally similar to the percentage of these same elements reported in the literature in human teeth. Based on the present study, it was concluded that: the similarity of the chemical compounds allows the in vitro study of bovine dental tissues in replacement of human dental tissues of difficult extraction; the enamel and dentin morphology of the deciduous and permanent bovine teeth showed similarity in the surface topographic profile analyzed. Therefore, new comparative morphological studies between bovine teeth and human teeth should be performed in order to better evaluate the similarities and differences of the different tissues.

Keywords: Bovine deciduous teeth; Permanent bovine teeth; EDS; 3D profilometry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: (a) Imagens dos dentes incisivos decíduos hígidos selecionados de bovinos, não apresentam trincas e desgaste. (b) Imagem do dente incisivos permanentes hígidos de bovino. 17
- Figura 2: Separação das coroas e raízes na máquina de corte. 18
- Figura 3:(a) Cilindros de resina acrílica para a fixação dos dentes bovinos. (b) Dente incisivo bovino fixado no cilindro de resina acrílica com auxílio de cera pegajosa e gotejador eletrônico. 19
- Figura 4: Imagens do processo do acoplamento do cilindro de resina acrílica em uma máquina de corte para a realização de cortes nas medidas 5 mm x 5 mm x 2mm. 19
- Figura 5: Cortes transversais realizados abaixo da junção amelocementária das amostras de dentes bovinos. Para a separação da dentina e do esmalte foram selecionados a secção central de cada dente. 20
- Figura 6 Armazenamento das amostras de esmalte e dentina separadas e fixadas em placas de cera. 20
- Figura 7: Espectros da fluorescência de Raio X emitidas pelas amostras do esmalte. À esquerda observa-se as bandas correspondentes aos elementos químicos presentes no esmalte de dentes decíduos bovino. À direita observa-se os elementos que constituem os dentes permanentes bovinos. Verifica-se que em ambos os dentes, os elementos Cálcio e Fósforo (em destaque), são predominantes da composição do esmalte. 22
- Figura 8: Espectros da fluorescência de Raio X emitidas pelas amostras da dentina. À esquerda observa-se as bandas correspondentes aos elementos químicos presentes na dentina de dentes decíduos bovino. À direita observa-se os elementos que constituem a dentina dos dentes permanentes bovinos. 23
- Figura 9: À esquerda, micrografia do esmalte do dente decíduo. À direita, micrografia do esmalte do dente permanente. 26
- Figura 10: À esquerda, micrografia da dentina do dente decíduo. À direita, micrografia da dentina do dente permanente. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantidade de Ca em porcentagem (%).	24
Tabela 2: Quantidade de P em porcentagem (%).	25

Sumário

1 INTRODUÇÃO	12
2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	15
3 OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo Geral	16
3.2 Objetivos Específicos	16
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 Delineamento Experimental	17
4.2 Seleção dos dentes	17
4.3 Preparo dos espécimes	18
4.4 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)	19
4.5 Avaliação em Perfilômetro 3D	21
4.6 Análise Estatística	22
5 RESULTADOS	22
6 DISCUSSÃO	28
7 CONCLUSÃO	31
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1 INTRODUÇÃO

Os tecidos dentários e suas estruturas de suporte são formados como resultado da interação entre o epitélio oral e o ectomesênquima, durante a odontogênese, sendo que cada tecido tem sua formação em um processo específico. Amelogênese e dentinogênese referem-se, respectivamente, à formação do esmalte e da dentina, que são tecidos dentários mineralizados. Em média, a formação e mineralização, da coroa de um dente decíduo humano ocorre, aproximadamente, entre seis meses, para incisivo central, e quatorze meses, para segundo molar decíduo, enquanto a média, para os mesmos processos do dente permanente, é de 3 a 4 anos. Em relação ao dente permanente, apresenta-se menos espesso, e o padrão de mineralização do dente decíduo, tanto em relação à velocidade quanto em relação à quantidade, é cerca de 5 vezes menor, quando comparado ao dente permanente (Araújo et al., 1995).

Em relação aos tecidos mineralizados do corpo humano, o esmalte dentário é o mais duro, apresentando 96% em peso de conteúdo inorgânico, associado a 4% de água e material orgânico. A porção mineral é representada por fosfato de cálcio cristalino e apatita, nas formas hidróxi, carbonatada ou fluoretada (Gwinnett et al., 1992). O cálcio e o fósforo são os elementos químicos que compõem a base desse tecido. Em um estudo sobre a avaliação comparativa da ultraestrutura e propriedades físicas de dentes bovino, bubalino e humano, Nogueira et al. (2018) mostra a semelhança na quantificação dos elementos cálcio e potássio no esmalte das diferentes amostras.

Variações secundárias ocorrem na sua composição, em que os elementos químicos, como alumínio, bário, estrôncio, magnésio e vanádio, também podem ser encontrados (Saleh et al., 2004). Em comparação aos dentes permanentes, o esmalte de dentes decíduos apresenta duas diferenças principais: menor mineralização (80,6% para dentes decíduos e 89,7% para dentes permanentes), e menor espessura do esmalte dos dentes decíduos (quase a metade da espessura do esmalte dos dentes permanentes).

A dentina é um substrato consideravelmente mais complexo. Sua principal função é fornecer suporte para o esmalte dentário. Para tal finalidade, a dentina necessita ser, ao mesmo tempo, um tecido duro, porém com certa elasticidade, sendo que tais propriedades são fornecidas pelo equilíbrio entre os componentes minerais e orgânicos que formam esse tecido. Apresenta-se como um tecido biológico hidratado - composto por 70% em peso de material inorgânico, 18%

em peso de material orgânico e 12% em peso de água - cujas propriedades e componentes estruturais variam conforme a região (Mjör, 2009). Seu componente inorgânico é constituído por cristais de hidroxiapatita, enquanto a porção orgânica contém principalmente colágeno tipo I, frações de colágeno tipo III e V, glicoproteínas e proteoglicanos, além de proteínas não colágenas. Os túbulos dentinários, que são canalículos orientados, compõem estruturalmente a dentina. Cada túbulo dentinário está circunscrito por uma dentina hipermineralizada, denominada dentina peritubular, e, entre eles, encontra-se a dentina intertubular, composta por fibrilas de colágeno tipo I e apatita (Mjör et al., 2009; Tronstad, 1973). Os túbulos convergem na câmara pulpar, portanto a densidade tubular e a orientação variam de acordo com a localidade no tecido (Mjör et al., 2009).

Alguns autores compararam a estrutura dentinária de dentes decíduos e permanentes. Segundo Koutsi et al. (1994), os túbulos dentinários dos dentes decíduos apresentam-se menores e em menor número que na dentina de dentes permanentes. Nesse contexto, Sumikawa et al. (1999) relata que a densidade numérica dos túbulos dentinários é maior em dentes decíduos, com diminuição da área de dentina intertubular. De acordo com Camargo et al. (2008), a dentina peritubular do dente decíduo mostrou-se 2 a 5 vezes mais espessa, e os túbulos dentinários apresentaram-se com diâmetro menor em comparação ao dente permanente.

Em relação à dentina, foi encontrado um número significativamente maior de túbulos dentinários em dentes bovinos em comparação aos dentes humanos, e o diâmetro dos túbulos foi o mesmo em ambos os tipos de espécimes (Camargo et al., 2007). Em contrapartida, outros autores compararam as dimensões tubulares e a distribuição da dentina humana e bovina nas regiões superficial, média e profunda da dentina, e verificaram que o número de túbulos por milímetro quadrado, independentemente da região, é significativamente maior na dentina humana do que na dentina bovina (Lopes et al., 2009).

As diferenças entre estes substratos podem influenciar tanto na velocidade de progressão de lesões cariosas e erosivas, quanto nos procedimentos restauradores adesivos (Wang et al., 2006). O esmalte em dentes decíduos apresenta maior susceptibilidade à erosão, comparado ao esmalte de dentes permanentes (Johansson et al., 2001). Outros trabalhos descrevem menores valores de resistência adesiva dos dentes decíduos em relação aos dentes permanentes (Burrow et al., 2002; Senawongse et al., 2004; Courson et al., 2005).

Dentes bovinos são muito utilizados em pesquisas devido à maior facilidade na obtenção e na padronização e tornaram-se modelos de referências por apresentarem características e propriedades morfológicas semelhante à de humanos, assim como microdureza e composição mineral (Wegehaupt et al., 2008). Estudos demonstraram similaridade também em relação à rugosidade superficial (Tanaka et al., 2008; Wegehaupt et al., 2008). Os incisivos, por serem encontrados hígidos, e em grande quantidade, possuem superfície ampla, com raros defeitos ou lesões cariosas, e são, frequentemente, os mais utilizados (Yassen et al., 2011).

O esmalte bovino tem uma composição mais uniforme e a orientação cristalina coincide com a do esmalte humano, assim como a porcentagem em peso de cálcio. Apresenta uma diminuição gradual semelhante da superfície para a junção dentina-esmalte, suas matrizes de proteínas são compostas de aminoácidos que se assemelham ao do esmalte humano. Estes tecidos se comportam de forma similar aos desafios ácidos e às condições remineralizantes. No entanto, diferem em alguns aspectos: os cristais de esmalte bovino são 1,7 vezes mais espessos do que o de humanos, a desmineralização no esmalte bovino progride 3 vezes mais rápido que no esmalte humano e os dentes bovinos têm uma região interprismática mais ampla (Attin et al., 2007; Turssi et al., 2010).

A maioria dos trabalhos em dentes humanos explora tais substratos de maneira isolada e, frequentemente, os resultados de pesquisas, realizadas em dentes permanentes, são extrapolados para os dentes decíduos. Isto acontece também em relação aos dentes bovinos, onde os resultados com dentes permanentes são extrapolados para tratamentos em dentes decíduos. Assim, tão relevante quanto os trabalhos existentes nos diferentes substratos, é o conhecimento detalhado desses mesmos tecidos em que são realizados os estudos que avaliam as propriedades físico-químicas dos materiais aplicados.

Dessa forma, a comparação entre o dente bovino decíduo e o permanente em um mesmo trabalho é essencial, seja pela padronização do método de análise da pesquisa ou pela eliminação do fator de variação, representado pelo operador.

Diante dos resultados dos trabalhos controversos, torna-se fundamental a realização de uma análise comparativa entre dentes decíduos e permanentes bovinos, para que esses substratos possam efetivamente ser utilizados em pesquisa *in vitro*, substituindo os dentes humanos.

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Atendendo à evolução e ao desenvolvimento da qualidade dos materiais dentários, têm surgido novos produtos no mercado. De forma a avaliar a sua eficácia, os novos materiais são submetidos a diversos testes laboratoriais. Assim, existem vários estudos *in vitro* que usam dentes humanos ou bovinos previamente extraídos. Estes estudos, geralmente, levam à comparação dos dentes bovinos e humanos, utilizando dentes incisivos permanentes. Na literatura, há uma deficiência nas análises morfológicas dos dentes decíduos de bovinos, e por isso, há a necessidade de estudos comparativos para analisar semelhanças e diferenças dos dentes decíduos e permanentes, justificando assim, a natureza deste estudo. A hipótese nula do trabalho é que não há diferença na quantidade de cálcio e fósforo e na superfície em esmalte e dentina de dentes bovinos decíduos e permanentes.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Comparar, *in vitro*, utilizando metodologias de análise morfológica e quantitativa da composição dos substratos, a dentina e o esmalte de dentes decíduos e permanentes bovinos.

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar os elementos químicos, cálcio e fósforo, presentes na composição da dentina e do esmalte de dentes bovinos permanentes.
- Avaliar qualitativamente a superfície da dentina e do esmalte das amostras de dentes bovinos permanentes e decíduos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

As amostras analisadas no estudo foram os substratos de esmalte e dentina de 8 dentes incisivos permanentes e 8 dentes incisivos decíduos de bovinos.

A variável de resposta qualitativa foi a análise da morfologia topográfica dos substratos.

A variável de resposta quantitativa foi a quantificação dos elementos cálcio (Ca) e fósforo (P) presentes nestes substratos, por meio da espectrometria de energia dispersiva de raio X (EDS).

4.2 Seleção dos dentes

Foram selecionados oito dentes bovinos incisivos decíduos hígidos, e oito dentes bovinos incisivos permanentes hígidos, como mostra a Figura 1. A idade do animal para o abate é de 12 meses para dentes decíduos e entre 18 a 24 meses para os dentes permanentes. Os dentes foram obtidos de animais diferentes, porém em idades equiparadas, decíduo e permanente, para não haver intercorrências.

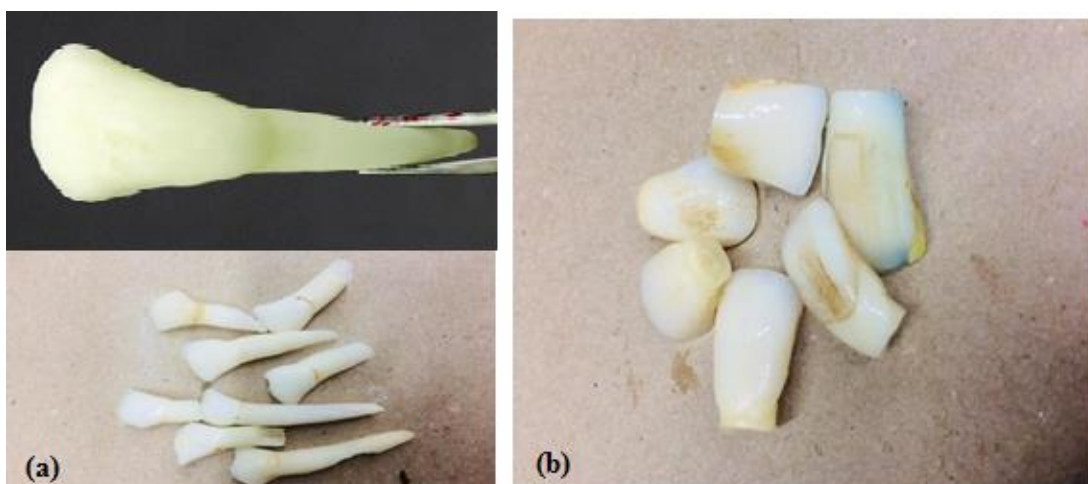


Figura 1: (a) Imagens dos dentes incisivos decíduos hígidos selecionados de bovinos, não apresentam trincas e desgaste. (b) Imagem do dente incisivos permanentes hígidos de bovino.

A desinfecção dos dentes foi feita em solução de timol 0,1% a 4 °C, por 48 horas. Em seguida, os espécimes foram lavados e armazenados em água destilada a 37 °C, com troca diária até a realização dos experimentos.

Os dentes (incisivos centrais superiores bovinos) foram limpos com curetas periodontais e polidos com pedra pomes e água, com o auxílio de uma escova de Robinson, montada em contra-ângulo. Em seguida, foram examinados com sonda exploradora, sob lupa estereoscópica (Carl Zeiss – Jena), em aumento de 10X, com o intuito de detectar alterações de estrutura ou trincas que possam comprometer os resultados deste estudo.

4.3 Preparo dos espécimes

Separou-se as coroas dentais das raízes, utilizando um equipamento de corte seriado (Minitom Struers A/S, Copenhagen - Denmark), dotado de um disco diamantado (KG Sorensen, Barueri - Brasil) refrigerado, para a secção das raízes 3 mm abaixo da junção amelocementária (Figura 2)

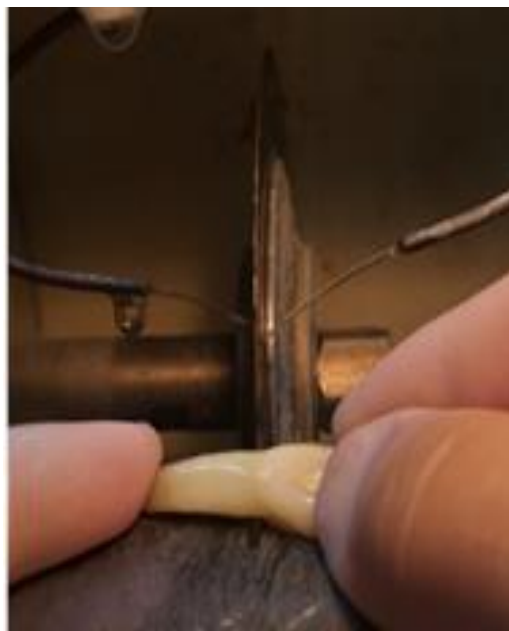


Figura 2: Separação das coroas raízes na máquina de corte.

Em seguida, como mostra a Figura 3, as coroas foram fixadas em um cilindro de resina acrílica com cera pegajosa em bastão e gotejador elétrico (Plaster, Caxias do Sul – Brasil).

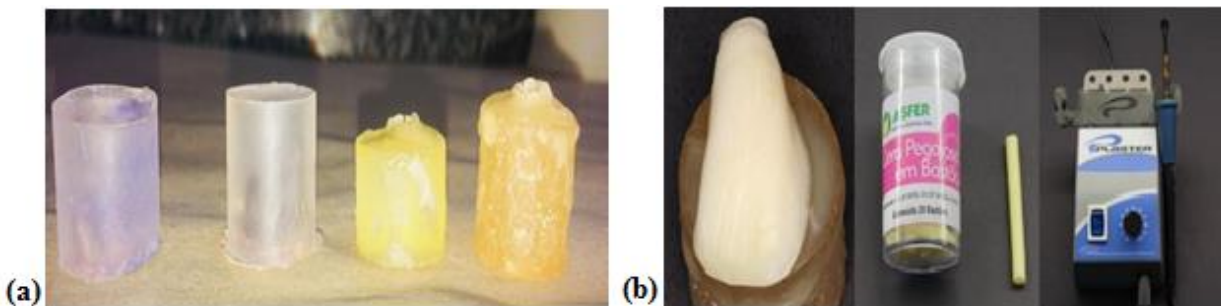


Figura 3:(a) Cilindros de resina acrílica para a fixação dos dentes bovinos. (b) Dente incisivo bovino fixado no cilindro de resina acrílica com auxílio de cera pegajosa e gotejador eletrônico.

Os cilindros de resina acrílica, com os dentes fixados, foram acoplados em uma máquina de corte ISOMET® 1000 (Precision Saw Buehler, Illinois – USA), com um dispositivo próprio, para obtenção de fragmentos medindo 5 mm x 5 mm x 2 mm de espessura (Figura 4).



Figura 4: Imagens do processo do acoplamento do cilindro de resina acrílica em uma máquina de corte para a realização de cortes nas medidas 5 mm x 5 mm x 2mm.

Oito dentes decíduos hígidos e oito permanentes hígidos, provenientes de bovinos, foram seccionados em corte transversal, no sentido vestibulo-lingual. Após o corte, selecionou-se a secção central de cada dente para análise de esmalte e dentina, como mostra a Figura 5.



Figura 5: Cortes transversais realizados abaixo da junção amelocementária das amostras de dentes bovinos. Para a separação da dentina e do esmalte foram selecionados a secção central de cada dente.

A separação do esmalte e da dentina, da parte central selecionada, foi realizada na mesma máquina de corte onde foram separadas as coroas das raízes dos dentes bovinos. Após a separação do esmalte e da dentina, as amostras foram fixadas, separadamente, em placas de cera utilidade para se manter o paralelismo e armazenadas em potes de plástico, com umidade relativa, em estufa a 37 °C por 72 horas (Figura 6).



Figura 6 Armazenamento das amostras de esmalte e dentina separadas e fixadas em placas de cera.

4.4 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

A Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio X (EDS – do inglês: *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) é utilizado para microanálise qualitativa e quantitativa de elementos químicos presentes em amostras. Os elementos químicos podem ser identificados por meio do espectro de raios-X emitidos, determinando, então, a composição em porcentagem dos íons presentes. A EDS utiliza raios-X característicos, emitidos por uma região da amostra, após bombardeamento por um feixe de elétrons. O bombardeamento de elétrons pode deslocar elétrons de camadas eletrônicas internas dos átomos da amostra. O átomo atingido (átomo ionizado) tende a voltar para o estado fundamental e passa por uma transição. Este estado de transição gera excesso de energia que é acompanhada de produção de raios-x característicos que permitem a identificação dos elementos químicos presentes na amostra.

O EDS, em aumento de 300 x, foi utilizado para quantificar os elementos cálcio (Ca) e fósforo (P) das amostras de esmalte e dentina separados da secção central do corte dos dentes incisivos. Os dentes precisam estar completamente secos. Para isso, os espécimes foram mantidos por 72 horas na estufa a 37 °C.

4.5 Avaliação em Perfilômetro 3D

Após selecionar a região 1,25 mm² do centro do espécime de 5 mm x 5 mm x 2 mm foi realizado a aquisição de imagem com uma objetiva de 10 (aumento de 300 x de magnificação).

Para a análise da topografia superficial, as amostras foram examinadas em um perfilômetro 3D (3D Measuring Laser Microscope – LEXT OLS 4000 – Olympus). As imagens da perfilometria 3D de superfície (variação vertical ao longo da superfície), expressa em µm, foram registrados e tratados com o software OLS 4000. Este software gera micrografias coloridas axonométricos da superfície, que são acompanhadas por uma escala em que cada cor representa um nível de profundidade.

4.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados no software estatístico SPSS versão 17.0. Realizou-se a comparação do percentual médio de cálcio e fósforo, utilizando o teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$).

5 RESULTADOS

A Figura 7 mostra o resultado do espectro das amostras de esmalte dos dentes incisivos de decíduos e permanentes.

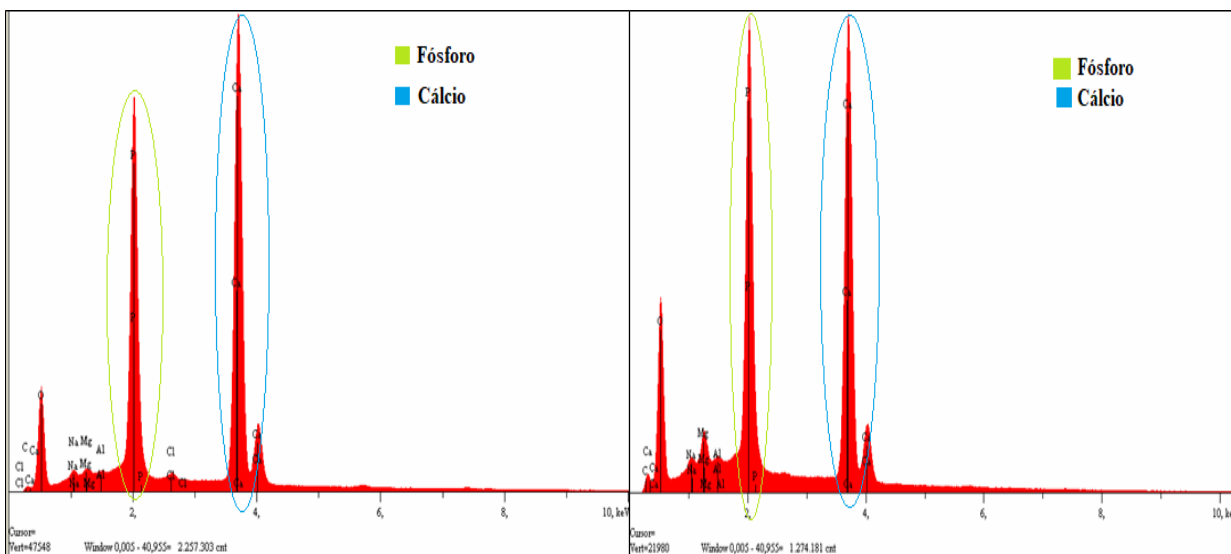


Figura 7: Espectros da fluorescência de Raio X emitidas pelas amostras do esmalte. À esquerda observa-se as bandas correspondentes aos elementos químicos presentes no esmalte de dentes decíduos bovino. À direita observa-se os elementos que constituem os dentes permanentes bovinos. Verifica-se que em ambos os dentes, os elementos Cálcio e Fósforo (em destaque), são predominantes da composição do esmalte.

O resultado do espectro das amostras de dentina dos dentes incisivos de decíduos e permanentes são mostradas na Figura 8:

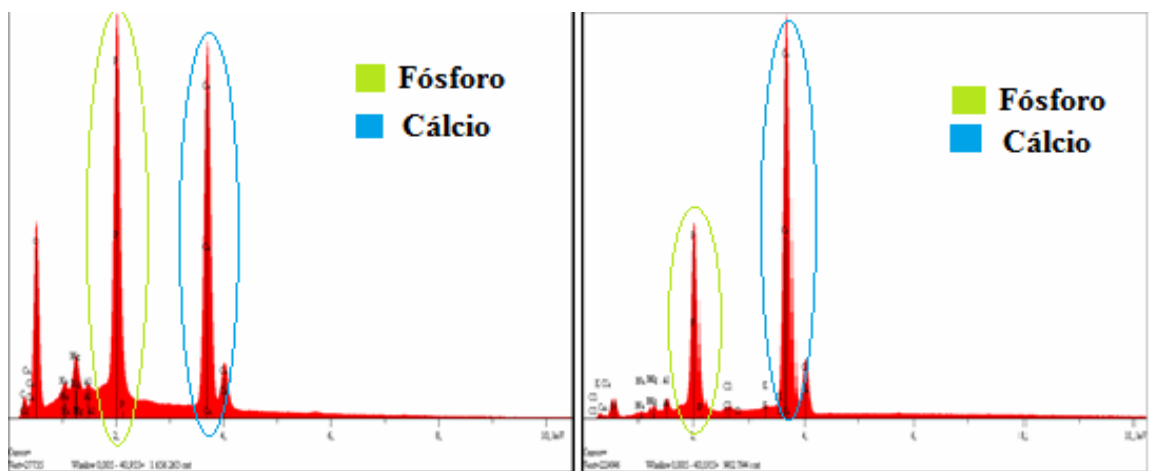


Figura 8: Espectros da fluorescência de Raio X emitidas pelas amostras da dentina. À esquerda observa-se as bandas correspondentes aos elementos químicos presentes na dentina de dentes decíduos bovino. À direita observa-se os elementos que constituem a dentina dos dentes permanentes bovinos.

Com a análise dos espectros observou-se que tanto no esmalte, quanto na dentina dos dentes decíduos e permanentes de bovinos, há predominância dos elementos químicos Ca e P.

As tabelas (1 e 2) abaixo mostram a quantificação, em porcentagem, de Ca e P presente nas amostras de esmalte e dentina de dentes incisivos decíduos e permanentes. A comparação foi feita entre esmalte de decíduo com esmalte de permanente e dentina de decíduo com dentina de permanente.

Tabela 1: Quantidade de Ca em esmalte e dentina de dentes bovinos, decíduos e permanentes, em porcentagem (%).

Amostras	Esmalte	Esmalte	Dentina	Dentina
	Decíduo	Permanente	Decíduo	Permanente
1	65,92	62,10	60,49	65,76
2	66,75	64,54	58,84	76,13
3	65,78	65,17	60,54	67,74
4	67,41	65,79	48,65	48,10
5	64,47	59,92	54,53	58,11
6	66,55	62,34	62,71	67,06
7	63,20	62,47	62,15	70,27
8	64,87	64,64	60,94	55,95
Média (DP)	65,62(1,37)	63,37(1,98)	58,60(4,75)	63,64(8,98)

p>0,05

Tabela 2: Quantidade de P em esmalte e dentina de dentes bovinos, decíduos e permanentes, em porcentagem (%).

Amostras	Esmalte	Esmalte	Dentina	Dentina
	Decíduo	Permanente	Decíduo	Permanente
1	34,08	37,90	39,51	34,24
2	33,25	35,46	41,16	23,87
3	34,22	34,83	39,46	32,26
4	32,59	34,21	51,35	51,90
5	35,53	40,08	45,47	41,89
6	33,45	37,66	37,29	32,94
7	36,80	37,53	37,85	29,73
8	35,13	35,36	39,06	44,05
Media (DP)	34,38(1,37)	36,63(1,98)	41,40(4,75)	36,36(8,98)

p>0,05

Utilizando o perfilômetro 3D, foram observadas as superfícies do esmalte dos dentes bovinos decíduos e permanentes, conforme mostra a Figura 9.

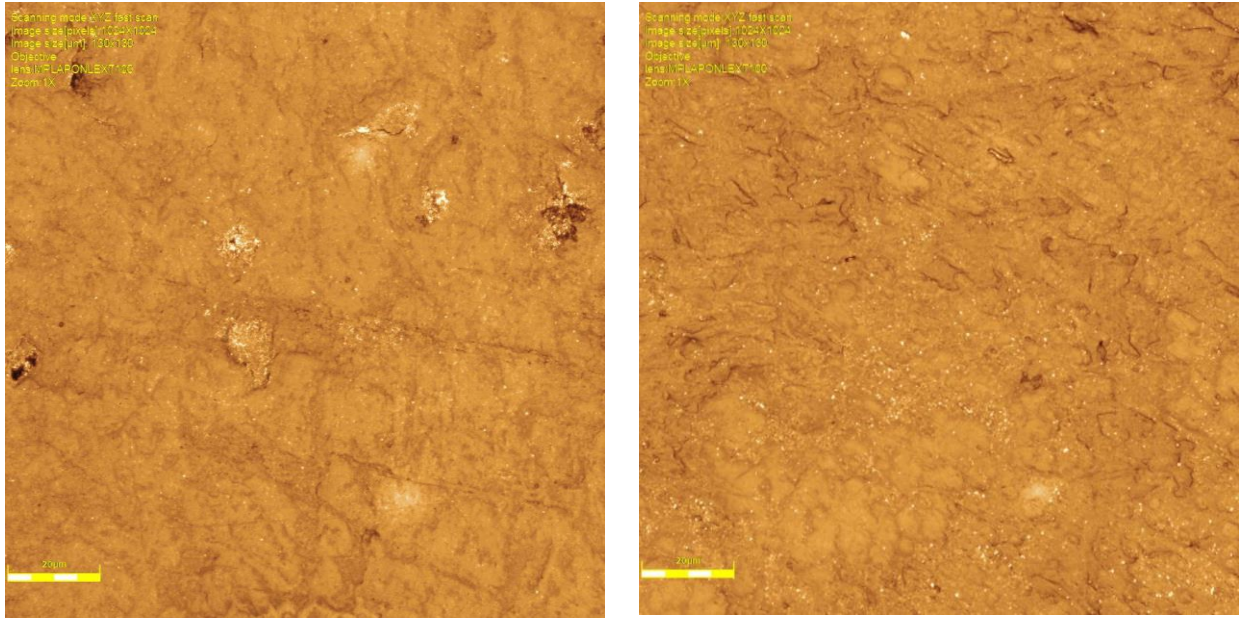


Figura 9: À esquerda, micrografia do esmalte do dente decíduo. À direita, micrografia do esmalte do dente permanente.

Analisando as micrografias do esmalte dos dentes permanentes e decíduos de bovinos, verificou-se a semelhança da topografia superficial das duas dentições.

A Figura 10 apresenta a micrografia da superfície da dentina dos dentes permanentes e decíduos de bovinos.

6 DISCUSSÃO

A maioria dos estudos em dentes humanos é feita em dentes permanentes, e extrapolados para dentes decíduos. Isso também acontece em estudos com dentes bovinos. A literatura é escassa em relação à pesquisa em dentes bovinos decíduos, e percebe-se a necessidade de uma análise comparativa entre os substratos, pois, sabe-se que dentes decíduos e permanentes possuem características próprias que podem influenciar nas propriedades dos tecidos dentários. Sendo assim, essas diferenças podem influenciar na progressão das lesões cariosas, bem como no tratamento restaurador utilizado.

No presente estudo, foram utilizados dentes bovinos que são de fácil obtenção e padronização, com o intuito de observar se as características de bovino decíduo seguem os padrões dos bovinos permanentes. Apesar da literatura, ser controversa em relação às semelhanças entre dentes permanentes bovinos e humanos, alguns autores apontam semelhanças dos mesmos (Castanho et al., 2011).

Nakamichi et al. (1983) foi o primeiro pesquisador a afirmar que os dentes bovinos são efetivamente confiáveis em pesquisa odontológica, baseando-se, em estudos histoquímicos e anatômicos que revelaram que os dentes de todos os mamíferos são essencialmente similares.

Quanto às questões morfológicas e estruturais, alguns autores como Tanaka et al. (2008) observaram que não há diferença estatística entre o esmalte permanente bovino e humano. Porém, em se tratando de dentes decíduos, tanto bovinos quanto humanos, há uma escassez de estudos morfológicos. Neste contexto, foi analisado, superficialmente, a estrutura do esmalte e da dentina dos dentes permanentes e decíduos de bovinos selecionados neste estudo.

Após a quantificação de Ca e P nas amostras de esmalte e dentina, observou-se, estatisticamente, que não houve significativa diferença na porcentagem destes elementos químicos nos dentes incisivos decíduos e permanentes.

Sabe-se que, o dente possui vários elementos como Cálcio (Ca), Cloro (Cl), Fósforo (P), Alumínio (Al), Magnésio (Mg), Sódio (Na), Carbono (C) e Oxigênio (O). O teste de EDS foi realizado para verificação dos elementos Ca e P de forma isolada. Desta forma, o próprio software

que fornece os valores de EDS considera que o valor de 100% é a somatória dos elementos Ca e P, desprezando matematicamente os outros elementos encontrados.

Os valores médios de Ca analisados em esmalte e dentina de dentes permanentes bovinos, foram, respectivamente de 63,37% e 63,64%. Para a análise do P, no esmalte e dentina de dentes permanentes bovinos, os valores médios de porcentagem, encontrados, foram respectivamente de 36,63% e 36,36%.

Nos dentes decíduos bovinos, os valores médios de porcentagem de Ca no esmalte e na dentina foram, respectivamente de 64,62% e 58,60%. Os valores médios de porcentagem de P analisado, no esmalte e dentina de dentes decíduos bovinos, foram, respectivamente de 34,38% e 41,40%. A hipótese nula foi, portanto, aceita.

Apesar dos poucos estudos comparativos na literatura, Gedalla et al. (1970) relataram uma porcentagem de 33,0 a 35,5% de Ca e de 16,8 a 19,8% de P na dentina de dentes permanentes humanos. Derise et al. (1974) observaram concentrações de Ca e P no esmalte de 37,1% e 18,1%, respectivamente, de 26,7% e 13,6% na dentina de dentes permanentes humanos.

Comparando a concentração dos elementos Ca e P encontrados, na dentina e no esmalte de dentes permanentes e decíduos de bovinos, neste estudo, com o encontrado na literatura a respeito dos dentes humanos, verifica-se que a concentração desses elementos é proporcionalmente similar. Essa similaridade dos elementos químicos presentes, reforça os estudos com dentes, tanto permanentes quanto decíduos, de bovinos para elucidar as problemáticas clínicas encontradas em dentes de humanos. Visto, a dificuldade da extração de dentes humanos para fins de pesquisas odontológicas.

Os estudos em relação aos elementos Ca e P poderiam ser responsáveis pelo diferente comportamento desses substratos perante aos desafios ácidos. Nör et al. (1996) relataram que a dentina do dente decíduo humano se apresenta mais reativa ao condicionamento ácido, em comparação à dentina do dente permanente humano, ocasionando uma desmineralização mais profunda da dentina intertubular. Em função disso, alguns autores sugerem uma diminuição do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos, de 7 a 10 segundos (Nör et al., 1996; Sardella et al., 2005; Torres et al., 2007).

Como o grau de mineralização está relacionado com a densidade dos cristalitos (Gwinnett, 1992), pode-se dizer que a densidade dos cristalitos no esmalte do dente decíduo seria menor, comparado à do dente permanente. O esmalte do dente decíduo apresentaria mais microporos, em comparação ao esmalte do dente permanente (Thylstrup & Fejerskov, 1995).

Nesse sentido, a menor mineralização (como consequência, menor densidade dos cristais do esmalte do dente decíduo), comparada ao dente permanente, explicaria, também, as diferenças encontradas na literatura em relação aos desafios ácidos na cavidade bucal entre estes dois substratos (Amaechi et al., 1999; Johansson et al., 2001; Wang et al., 2006).

Através da perfilometria do esmalte dos dentes permanentes e decíduos de bovinos, verificou-se a semelhança da topografia superficial das duas dentições. Ambos os dentes não apresentaram grandes rugosidades, possuem mesma coloração e profundidade.

As análises da topografia dos dentes permanentes e decíduos foram realizadas superficialmente, porém, com os resultados obtidos verificou-se, pela similaridade observada, a promissora utilização dos dentes bovinos permanentes e decíduos para estudos de análise tecidual dentária.

Estudos comparativos são importantes, pois permitem a padronização das metodologias de análise. Em alguns poucos estudos encontrados na literatura, autores relataram diferenças entre o esmalte e a dentina de dentes decíduos e permanentes de humanos, o que não foi observado neste estudo com dentes bovinos. Essas diferenças podem ser explicadas em função das características peculiares de cada elemento dental isoladamente, e devido às diferenças metodológicas, como técnicas de corte e análises do substrato. Esse fato, aliado às diferenças nas metodologias empregadas nos estudos, definiu-se como um empecilho e um desafio para que os resultados do presente estudo pudessem ser comparados aos da literatura. Outros estudos se fazem necessários para o melhor entendimento da estrutura do dente bovino decíduo e permanente.

Em trabalhos futuros, será avaliada a rugosidade superficial e linear do esmalte e dentina de dentes bovinos para a verificação de dureza antes e após o condicionamento ácido, com o intuito de confirmar se o padrão de condicionamento é o mesmo em decíduo e permanente bovinos. Será medida a espessura de esmalte e dentina de permanentes e decíduos bovinos e pretende-se quantificar os prismas de esmalte e túbulos dentários em dentes bovinos.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e considerando as limitações de um estudo *in vitro*, concluiu-se que:

- O percentual de Ca e P, tanto na dentina quanto no esmalte dos dentes de bovino analisados são, proporcionalmente, similares ao percentual destes mesmos elementos relatados, na literatura, em dentes humanos.
- A similaridade dos compostos químicos permite o estudo *in vitro* de tecidos dentários bovinos em substituição aos tecidos dentários humanos de difícil extração.
- A morfologia do esmalte e da dentina dos dentes bovinos decíduos e permanentes apresentaram semelhança no perfil topográfico superficial analisado.
- Novos estudos morfológicos comparativos entre dentes bovinos e dentes humanos devem ser estudados a fim de avaliar melhor as semelhanças e diferenças dos diferentes tecidos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S.M.; EDGAR, W.M. Factors Influencing the Development of Dental Erosion *in vitro*: Enamel Type, Temperature and Exposure Time. **Journal of Oral Rehabilitation**. v. 26(8), p. 624-30, 1999.

ARAÚJO, F.B.; MORAES, F.F.; FOSSATI, A.C.M. A Estrutura da Dentina do Dente Decíduo e sua Importância Clínica. **Revista Brasileira de Odontologia**. v. 52(4), p. 37-43, 1995.

ATTIN, T.; WEGEHAUPT, F.; GRIES, D.; WIEGAND, A. The Potential of Deciduous and Permanent Bovine Enamel as Substitute for Deciduous and Permanent Human Enamel: Erosion-abrasion Experimentes. **Journal of Dentistry**. v. 35, p. 773-777, 2007.

BRUDEVOLD, F.; SAVORY, A.; GARDNER, D. E.; SPINELLI, M.; SPEIRS, R. A Study of Acidulated Fluoride Solutions. I. *In vitro* Effects on Enamel. **Archives of Oral Biology**. v. 8, p. 167-177, 1963.

BURROW, M.F.; NOPNAKEEPPONG, U.; PHRUKKANON, S. A Comparison of Microtensile Bond Strengths of Several Dentin Bonding Systems to Primary and Permanent Dentin. **Dental Materials**. v. 18, p. 239-245, 2002.

CAMARGO, C.H.; SIVIERO, M.; CAMARGO, S.E; DE OLIVEIRA, S.H.; CARVALHO, C.A.; VALERA. M.C. Topographical, Diametral, and Quantitative Analysis of Dentin Tubules in the Root Canals of Human and Bovine Teeth. **Journal of Endodontics**. v. 33, p. 422-426, 2007.

CAMARGO, M.A.; MARQUES, M.M.; DE CARA, A.A. Morphological Analysis of Human and Bovine Dentine by Scanning Electron Microscope Investigation. **Archives of Oral Biology**. v. 53, p. 105–108, 2008.

CASTANHO, G.M.; MARQUES, M.M.; MARQUES, J.B.; CAMARGO, M.A.; CARA, A.A.D. Micromorphological and Hardness Analyses of Human and Bovine Sclerotic Dentin: a Comparative Study. **Brazilian Oral Research**. v. 25, p. 274–279, 2011.

COURSON, F.; BOUTER, D.; RUSE, N.D.; DEGRANGE, M. Bond Strengths of Nine Current Dentine Adhesive Systems to Primary and Permanent Teeth. **Journal of Oral Rehabilitation**. v. 32, p. 296-303, 2005.

DERISE NL, R.S.J.; FURR, A.K. Mineral Composition of Normal Human Enamel and Dentin and the Relation of Composition to Dental Caries. I-Macrominerals and Comparison of Methods of Analyses. **Journal of Dental Research**. v. 53(4), p. 847-52, 1974.

GARBEROGLIO, R.; BRÄNNSTRÖM, M. Scanning Electron Microscopic Investigation of Human Dentinal Tubules. **Archives of Oral Biology**. v. 2(6), p. 355-362, 1976.

GEDALLA, I.; HERMEL, I.; SCIAKY, I.; BEINERT, E. Mineral Composition of Sound Dentin of Noncarious and Carious Teeth. **Journal of Dental Research**. v. 49(2), p. 456, 1970.

GWINNETT, A.J. Structure and Composition of Enamel. **Operative Dentistry**. v. 5, p. 10-17, 1992.

HARA, A.T.; QUEIROZ, C.S.; PAES LEME, A.F.; SERRA, M.C.; CURY, J.A. Caries Progression and Inhibition in Human and Bovine Root Dentine *in situ*. **Caries Research**. v. 37, p. 339-344, 2003.

HIRAYAMA, A.; YAMADA, M.; MIAKE, K. An Electron Microscopy Study on Dentinal Tubules of Human Deciduous Teeth. **Shikwa gakuho**. v. 86(6), p. 1021-1031, 1986.

JOHANSSON, A.K.; SORVARI, R.; BIRKHED, D.; MEURMAN, J.H. Dental Erosion in Deciduous Teeth – an *in vivo* and *in vitro* Study. **Journal of Dentistry**. v. 29(5), p. 333-340, 2001.

KOUTSI, V.; NOONAN, R.G.; HORNER, J.A.; SIMPSON, M.D.; MATTHEWS, W.G.; PASHLEY, D.H. The Effect of Dentin Depth on the Permeability and Ultrastructure of Primary Molars. **Pediatric Dentistry**. v. 16(1) p. 29-35, 1994.

LOPES, M.B.; SINHORETI, M.A.; GONINI JÚNIOR, A.; CONSANI, S.; MCCABE, J.F. Comparative Study of Tubular Diameter and Quantity for Human and Bovine Dentin at Different Depths. **Brazilian Dental Journal**. v. 20, p. 279-283, 2009.

MECKEL, A.H.; GRIEBSTEIN, W.J.; NEAL, R.J. Structure of Mature Human Dental Enamel as Observed by Electron Microscopy. **Archives of Oral Biology**. v. 10(5), p. 775 - 783, 1965.

MJÖR, I.A. Dentin Permeability: the Basis for Understanding Pulp Reactions and Adhesive Technology. **Brazilian Dental Journal**. v. 20(1), p. 13-16, 2009.

NAKAMICHI I; IWAKU, M; FUSAYAMA,T. Bovine Teeth as Possible Substitutes in the Adhesion Test. **Journal of Dental Research**. v. 62, p. 1076-81, 1983.

NOGUEIRA, B.C.L.; FERNANDES, P.M.; PAIVA, A.C.J.; FAGUNDES, N.C.F.; TEIXEIRA, F.B.; LIMA, R.R. Avaliação Comparativa da Ultraestrutura e Propriedades Físicas do Esmalte Bovino, Bubalino e Humano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34(5), p. 485-490, 2014.

NOGUEIRA, J.C.C. **Influência de Métodos de Esterilização nas Propriedades Físicas do Substrato Dental**. 2010. Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

NÖR, J.E.; FEIGAL, R.J.; DENNISON, J.B.; EDWARDS, C.A. Dentin Bonding: SEM Comparison of the Eesin-Dentin Interface in Primary and Permanent Teeth. **Journal of Dental Research**. v. 75(6), p. 1396- 1403, 1996.

OLIVEIRA, M.A.H.M; TORRES, C.P.; GOMES, J.M.G.; CHINELATTI, M.A.; MENEZES, F.C.H.; DIBB, R.G.P.; BORSATTO, M.C. Microstructure and Mineral Composition of Dental Enamel of Permanent and Deciduous Teeth. **Microscopy Research and Technique (Print)**. v. 73, p. 572-577, 2010.

SALEH, J.; WILLKE, L.W.; BASSANI, I.A.; KRAETHER, L.; MOLZ, R.F.; SANTOS, L.A. Obtenção e Avaliação de Hidroxiapatita *in vivo*. **XVI Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, Porto Alegre, 2004.

SARDELLA, T.N.; CASTRO, F.L.A.; SANABE, M.E.; HEBLING, J. Shortening of Primary Dentin Etching Time and its Implication on Bond Strength. **Journal of Dentistry**. v. 33, p. 355-62, 2005.

SENAWONGSE, P.; HARNIRATTISAI, C.; SHIMADA, Y.; TAGAMI, J. Effective Bond Strength of Current Adhesive Systems on Deciduous and Permanent Dentin. **Operative Dentistry**, v. 29, p. 196-202, 2004.

STACK, M.V. Organic Constituents of Enamel. **Journal of the American Dental Association**. v. 48(3), p. 297-306, 1954.

SUMIKAWA, D.A.; MARSHALL, G.W.; GEE, L.; MARSHALL, S.J. Microstructure of primary tooth dentin. **Pediatric Dentistry**. v. 21(7), p. 439-44, 1999.

TANAKA, J. L.; MEDICI FILHO, E.; SALGADO, J.A; SALGADO, M.A; MORAES, L.C.; MORAES, M.E.; CASTILHO, J.C. Comparative Analysis of Human and Bovine Teeth: Radiographic Density. **Brazilian Oral Research**. v. 22(4), p. 346-351, 2008.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Tratado de Cariologia**. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica Ltda. p. 117-154, 1995.

TORRES, C.P.; CHINELATTI, M.A.; GOMES-SILVA, J.M.; PALMA-DIB, R.G.; BORSATTO, M.C. Tensile Bond Strength to Primary Dentin After Different Etching Times. **Journal of Dentistry for Children**. v.74, p. 113-117, 2007.

TORRES, C.P.; GOMES, J.M.G; OLIVEIRA, M.A.H.M; SILVA, L.E.S; DIBB, R.G.P; BORSATTO, M.C. FT-Raman Spectroscopy, μ -EDXRF Spectrometry, and Microhardness Analysis of the Dentin of Primary and Permanent Teeth. **Microscopy Research and Technique**. v. 81, p. 1-6, 2018.

TRONSTAD, L. Ultrastructural Observations on Human Coronal Dentin. **Journal of Dental Research**, v. 81(2), p. 101-111, 1973.

TURSSI, C.P.; MESSIAS, D.F.; CORONA, S.M.; SERRA, M.C. Viability of Using Enamel and Dentin from Bovine Origin as a Substitute for Human Counterparts in an Intraoral Erosion Model. **Brazilian Dental Journal**. v.21, n. 4, p. 332-336, 2010.

WANG, L.J.; TANG, R.; BONSTEIN, T.; BUSH, P.; NANCOLLAS, G.H. Enamel demineralization in primary and permanent teeth. **Journal of Dental Research**. v. 85(4), p. 359-363, 2006.

WEGEHAUPT, F.; GRIES, D.; WIEGAND, A.; ATTIN, T. Is Bovine Dentine an Appropriate Substitute for Human Dentine in Erosion/Abrasion Tests? **Journal of Oral Rehabilitation**. v. 35, p. 390–394, 2008.

YASSEN, G. H.; PLATT, J. A.; HARA, A. T. Bovine Teeth as Substitute for Human Teeth in Dental Research: a Review of Literature. **Journal of Oral Science**. v. 53(3), p. 273-282, 2011.