MARIA ANGÉLICA HUEB DE MENEZES OLIVEIRA

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

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título de Doutor junto
ao Programa de Pós-Graduação em
Odontopediatria.

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto

**RIBEIRÃO PRETO
2009**

Menezes-Oliveira, Maria Angélica Hueb

Comparação dos aspectos morfológicos e químicos de esmalte e dentina de dentes decíduos e permanentes. Ribeirão Preto, 2009.

80 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP – Programa: Odontopediatria

Orientadora: Borsatto, Maria Cristina

1. Dentes Decíduos. 2. Dentes Permanentes. 3. Microscopia Eletrônica de Varredura. 4. Espectroscopia Dispersiva de Raio-X. 5. Difração de Raio-X. 6. Microscopia Óptica.

MARIA ANGÉLICA HUEB DE MENEZES OLIVEIRA

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

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor junto ao Programa de
Pós-Graduação em Odontopediatria.

Data da defesa: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

MARIA ANGÉLICA HUEB DE MENEZES OLIVEIRA

Nascimento	08/11/1963 – Uberaba– MG
Filiação	Murilo Pacheco de Menezes Terezinha Hueb de Menezes
1982-1985	Curso de Graduação Faculdade de Odontologia de Uberaba- FIUBE
1992-1993	Especialização em Clínicas Odontológicas Faculdade de Odontologia de Uberaba- FIUBE
1994-1995	Especialização em Odontopediatria Associação Odontológica de Ribeirão Preto
2002-2005	Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível de Mestrado Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo– FORP/USP
2006-2009	Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível de Doutorado Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo– FORP/USP

DEDICO ESTE TRABALHO

A Deus,

Pela minha vida, pela minha família e pelas oportunidades ao longo de minha existência.

Aos meus pais, Murilo e Terezinha,

Pela dedicação, exemplo de amor verdadeiro e incondicional, transpondo para a família todos os ensinamentos sobre amor, amizade, companheirismo, alicerçado na convivência estruturada e harmoniosa, que sempre norteou nossa família. Tenho o maior orgulho, e agradeço a Deus, a dádiva de pertencer a esta família, e por ser filha de vocês. O exemplo do amor e da convivência de vocês estará presente em toda a minha vida, e peço a Deus que consiga transmitir parte do que recebi a meus filhos. Ser filha de vocês é uma bênção. Muito obrigada por tudo. Amo vocês profundamente.

Júnior, meu querido,

Obrigada pelo seu amor, compreensão, dedicação, e, principalmente, por ter entendido minha ausência, muitas vezes deixando as suas atividades de lado, para suprir minha ausência em casa. Seu apoio é sempre fundamental. Obrigada pelo seu amor, por entender e aceitar meus anseios e objetivos de vida, pelos nossos filhos e por fazer parte da minha vida. Te amo muito.

Aos meus doces e queridos filhos, Paula, Marcelo e Renato,

Agradeço a Deus poder ser mãe de vocês, crianças tão maravilhosas. Vocês são a razão da minha vida, minha maior riqueza, meu objetivo de vida. As vezes em que tive que me ausentar do convívio de vocês foram sempre difíceis, tanto para mim quanto para vocês, que na inocência da infância, conseguiam entender. Amo vocês incondicionalmente, meus queridos.

Aos meus queridos irmãos, José Luiz, Paulo, Fabiano e Fernando,

É muito bom conviver com vocês. Obrigada pelo carinho, apoio e dedicação, e principalmente pelo estímulo constante nas horas em que mais precisei. Vocês tornam a vida mais bonita. O amor que nos une é especial. Amo vocês.

Às minhas cunhadas, Mônica, Nilda, Giovana e Mariana, pelo apoio, incentivo e pelas palavras amigas.

Aos meus sogros, Aguinaldo e Alva, por me terem acolhido como filha, pela atenção e incentivo, e aos meus cunhados, Isabel Cristina, Geraldo, Beatriz e Maria Eugênia, pela convivência agradável e pelo apoio constante.

Ao meu querido tio Antônio, presença amiga e confortante, pelo incentivo e apoio em todos os momentos em que precisei.

Aos meus sobrinhos, Mateus, Fabiana, João Lucas, Carolina, Ana Victória, Bruno, Bárbara, Pedro Henrique, Marília e Stella, pela amizade e pelo amor que nos une.

Ao meu querido pai,

A ausência ainda machuca e a saudade não aplaca, mas seu amor me acompanha e seu carinho me embala e consola. Você é nobre, é o meu mestre, sempre que precisei tinha uma palavra amiga e acolhedora. Ainda me sinto embalada e protegida pelo seu amor. Como queria tê-lo por perto.....Te amo muito.

A minha querida Mãe,

Você é o verdadeiro exemplo de Mãe. Dedicada e amorosa, presente e atuante, conciliadora, detentora de uma serenidade invejável, capaz de enxergar e mostrar com serenidade que "enquanto houver sol, ainda haverá"... Admiro como consegue ser uma fortaleza com serenidade, agindo sempre com equilíbrio, iluminando meu caminho. Obrigada pela presença amiga, força e por seu amor. Te admiro e te amo muito

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto, minha orientadora,

Minha gratidão pelos momentos de partilha, por sua solidariedade e compreensão diante de minhas dificuldades, pela amizade, sabendo entender, no compartilhamento educacional, os momentos de tensão, de ansiedade, muitas vezes até de desânimo. Você foi a amiga de uma jornada nem sempre fácil: mas com sua compreensão, soube auxiliar-me no afastamento das pedras do caminho. Muito obrigada por tudo.

À Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb,

Obrigada por ter desempenhado comigo este trabalho, por acompanhar e incentivar cada busca, superando os obstáculos. Você me recebeu, me impulsionou, apoiou, auxiliando-me, dando-me credibilidade e dividindo seu conhecimento. Obrigada pelo incentivo, por seu profissionalismo, carinho e por sua amizade. Sou profundamente grata por me permitir conviver com você e pela sua disponibilidade em todos os momentos em que precisei dos seus conhecimentos e de sua amizade.

Aos docentes do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Profa. Dra. Sada Assed, Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva, Profa. Dra. Aldevina Campos Freitas, Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto, Profa. Dra. Kranya Victória Díaz Serrano, Prof. Dr. Paulo Nelson Filho, Profa. Alexandra Mussolino de Queiroz, Profa. Dra. Maria Conceição Pereira Saraiva, Prof. Dr. Adilson Thomazinho, Prof. Dr. José Tarcísio Lima Ferreira, Profa. Dra. Mirian Aiko Nakame Matsumoto, Profa. Dra. Maria Bernadete Sasso Stuani, meus agradecimentos pela forma desprendida e amiga com que sempre me apoiaram.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, Marco Antônio dos Santos, Micheli Cristina Leite Rovanholo, Fátima Aparecida Jacinto Daniel, Carmo Eurípedes Terra Barretto e Renata Aparecida Fernandes, pela agradável convivência e colaboração constante.

Às funcionárias da Secção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, Isabel Cristina Galino Sola e Regiane Cristina Moi Sacilotto, pela dedicação e carinho dispensados a todos os alunos de pós-graduação.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva, Valéria Pontelli Navarro Tedeschi, Marta Estela Saravia, , Alexandra Mussolino de Queiroz, Soraia Monique Fiorati Aguiar e Sara Elisa Medina Mattar e Raquel Assed Bezerra da Silva, pela agradável convivência.

À Carolina Paes Torres Mantovani,

Como agradeço sua amizade. Você é especial, desprendida, disposta a ajudar sempre, com um sorriso que ilumina e tranquiliza, independentemente de suas atribuições: conviver com você é um privilégio. Minha gratidão pelo seu apoio e pela valiosa ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À Jaciara Miranda Gomes da Silva,

Sua amizade foi uma aquisição valiosa. Como admiro sua desenvoltura, desprendimento, sua forma de agir! Seu apoio e ajuda foram fundamentais na realização deste trabalho. Obrigada por me acolher em todos os momentos. Minha imensa gratidão por tudo que você fez e tem feito por mim.

Carol e Jaci,

Se eu tivesse irmã, com certeza gostaria que fosse como vocês. Obrigada pela amizade sincera, pela convivência amável e carinhosa, por me ajudar nos momentos mais difíceis, tornando as dificuldades mais amenas. A presença de vocês foi fundamental na realização deste trabalho.

À Michelle Chinelatti, meu reconhecimento pela valiosa ajuda, pelo apoio e colaboração.

À Marta Contente, Rodrigo Gallo e Fátima Rizoli, obrigada pelo incentivo e pela amizade de vocês.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo,

Benedita Viana Rodrigues, Carmo Eurípedes Terra Barreto, Dorival Gaspar, Fátima Aparecida Jacinto Daniel, Fátima Aparecida Rizóli, Gisele Faria, José Augusto Paciência, José Aparecido Neves do Nascimento, Marco Antonio dos Santos, Nadir das Dores G. Felício, Nilva Aparecida Afonso Ruggiero, Osvaldo Aparecido Pinheiro, Raquel Assed Bezerra da Silva, Rejane Gomes Cavalheiro Mazer, Renata Aparecida Fernandes Rodrigues e Vera Ribeiro do Nascimento, obrigada pelo carinho com que sempre me trataram.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Isabel Cristina Galino Sola e Regiane Cristina Moi Sacilotto, pelo carinho e atenção prestada.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva, minha gratidão pelo acolhimento e pela importante oportunidade.

À Universidade de Uberaba, na pessoa do Magnífico Reitor, Dr. Marcelo Palmério, pela atenção e incentivo, confiança e amizade.

Às amigas da UNIUBE, Ana Maria S.R. da Cunha, Cristina Luzia L. Silva, Mara Lúcia Bonfim Misson, Rosa Maria Silva, Sara Elisa Medina Mattar, pelo incentivo, apoio e companheirismo, e principalmente pela contribuição valiosa quando eu me ausentava.

À minha querida mãe, Terezinha Hueb de Menezes, pela competência com que revisou este trabalho, sacrificando seu pouco tempo de descanso para me ajudar.

Ao Fernando, pelo apoio e disponibilidade em ajudar em todos os momentos.

Ao Departamento de Engenharia de Materiais da UFSCAR e em especial ao Diego e ao Vítor pela disposição para a realização dos teste de MEV, EDX e Difração de Raio-X.

A Mara Rúbia pela disposição, competência e amizade na realização deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a consecução deste trabalho, minha sincera gratidão.

"Talvez quando o homem, substancialmente reestruturado, vislumbrar no espelho da vida, impressa no próprio reflexo, a imagem do seu semelhante, se inicie, então, a verdadeira caminhada para um mundo melhor."

Prof. Murilo Pacheco de Menezes

RESUMO

Menezes-Oliveira, MAH. **Comparação dos aspectos morfológicos e químicos de esmalte e dentina de dentes decíduos e permanentes.** [tese]. Ribeirão Preto: FORP – Universidade de São Paulo; 2009.

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar e comparar a microestrutura e a composição mineral do esmalte e da dentina de dentes decíduos e permanentes. Terceiros molares hígidos e segundos molares decíduos foram selecionados e distribuídos aleatoriamente em grupos, de acordo com o método de análise dos substratos utilizado: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raio X (EDX), Difração de Raio X (DRX) e Microscopia Óptica (MO). Foi realizada comparação qualitativa e quantitativa da estrutura dental. As medidas de densidade numérica e diâmetro dos prismas de esmalte/túbulos dentinários e, de espessura do esmalte, dentina e dentina peritubular foram realizadas por meio de fotomicrografias obtidas pela MEV. Os resultados obtidos por meio da SEM foram analisados estatisticamente pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. A quantidade relativa de íons cálcio (Ca) e fósforo (P) foram determinadas por meio de EDX e as fases químicas presentes em ambos os substratos, por análise de DRX. O valor das medidas de espessura observado para o esmalte e dentina dos dentes decíduos foi de 1.14 mm e 3.02 mm, respectivamente. Para os dentes permanentes, obtiveram-se valores de 2.58 mm para o esmalte e 5.95 mm para a dentina. Com relação ao diâmetro da cabeça dos prismas de esmalte, os resultados foram estatisticamente semelhantes para os dentes decíduos e permanentes, demonstrando uma ligeira diminuição do diâmetro da superfície externa para a região próxima a junção amelodentinária (JAD). A densidade numérica dos prismas foi maior nos dentes decíduos, principalmente próximo à JAD, sendo estatisticamente diferente dos valores observados nos dentes permanentes, independente da região analisada. Na análise do diâmetro e densidade numérica dos túbulos dentinários verificou-se semelhança estatística entre os dentes decíduos e permanentes, havendo

aumento gradativo do número de túbulos a partir da JAD em direção a região próxima a polpa. A espessura da dentina peritubular, na região próxima a JAD e central foi, respectivamente, 0.91 e 0.59 mm nos dentes decíduos 1.16 e 0.98 mm nos dentes permanentes. A porcentagem de Ca e P foi maior nos dentes permanentes. Observou-se ainda, que a quantidade de colágeno nos dentes decíduos foi aparentemente menor quando analisados por meio da MO. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que, de maneira geral, os dentes decíduos apresentam menor porcentagem de Ca e P, menor espessura de esmalte e dentina, maior densidade numérica de prismas e dentina peritubular mais delgada quando comparada aos dentes permanentes.

Palavras-chave: dentes decíduos, dentes permanentes, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia dispersiva de raio-x, difração de raio-x, microscopia óptica.

ABSTRACT

Menezes-Oliveira, MAH. **Morphological and chemical aspects comparison between enamel and dentin of permanent and deciduous teeth.** [tese].
Ribeirão Preto: FORP – Universidade de São Paulo; 2009.

This study evaluated *in vitro* the microstructure and mineral composition of dental enamel and dentin comparing the permanent teeth with the deciduous teeth. Sound third molars and second primary molars were selected and randomly assigned to the following groups, according to the analysis methods of the substrates performed: Scanning Electron Microscopy (SEM), X-Ray diffraction (XRD), Energy dispersive X-ray spectrometer (EDS) and Optical Microscopy (OP). A qualitative and quantitative comparison of the dental structure was done. The measurements of the number and diameter of prisms/tubules, thickness of enamel, dentin and peritubular dentin were done in SEM photomicrographs. The microscopic findings were analyzed statistically by a non-parametric test (Kruskal-Wallis). The relative amounts of calcium (Ca) and phosphorus (P) were determined by EDS investigation. Phase present in both types of teeth were observed by the XRD analysis. The mean thickness measurements observed in the deciduous teeth enamel and dentin was, respectively, 1.14 mm and 3.02 mm and in the permanent teeth, 2.58 mm and 5.95 mm. The mean rod head diameter in deciduous teeth was statistically similar to that of permanent teeth enamel, and a slightly decrease from the outer enamel surface to the region next to the enamel-dentine junction was assessed. The numerical density of enamel rods was higher in the deciduous teeth, mainly near EDJ, that showed statistically significant difference. The mean tubules number and diameter in deciduous teeth were statistically similar to that of permanent teeth, and this numerical density increased from the EDJ to the region near the pulp. The mean thickness measurements of peritubular dentin observed in the regions near EDJ and central were, respectively, 0.91 and 0.59 mm for the primary teeth / 1.16 and 0.98 mm for the permanent teeth. The percentage of Ca and P was higher in the permanent teeth. The collagen level was apparently lower in deciduous teeth

when analyzed by OP. The primary teeth structure showed a lower level of Ca and P and a thinner enamel and dentin thickness. The deciduous enamel presented higher numerical density of rods. The peritubular dentin was thicker in the permanent teeth.

Key-words: deciduous teeth, permanent teeth, scanning electron microscopy, X-Ray diffraction, Energy dispersive X-ray spectrometer, optical microscopy

SUMÁRIO

1 Introdução.....	15
2 Proposição	22
3 Material e Método.....	24
4 Resultados	37
5 Discussão	58
6 Conclusão	71
Referências.....	74
Anexo

INTRODUÇÃO

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 em particular é formado por um processo específico. Assim, amelogênese e dentinogênese referem-se, respectivamente, à formação do esmalte e da dentina, dois tecidos dentários mineralizados. Em média, a formação e mineralização da coroa de um dente decíduo acontecem, aproximadamente, entre seis meses, para incisivo central, e quatorze meses, para segundo molar decíduo, enquanto a média, durante os mesmos processos para um dente permanente, é de 3 a 4 anos. Presume-se, por isso, que o dente decíduo se apresenta menos espesso em relação ao dente permanente. Além disso, 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).

O esmalte dentário é o mais duro dos tecidos mineralizados do corpo humano, 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 de apatita, nas formas hidroxí, carbonatada ou fluoretada (Meckel et al., 1965; Stack 1954; Gwinnett, 1992). Os elementos químicos que compõem a base desse tecido são o cálcio e o fosfato (Brudevold et al., 1963). Variações secundárias ocorrem na sua composição, em que os elementos químicos, como

alumínio, bário, estrôncio, magnésio e vanádio, também podem ser encontrados (Gwinnett, 1992; Saleh et al., 2004).

No estágio inicial de formação do tecido, processo de mineralização, ocorre a formação de um arcabouço cristalino, constituído de cristalitos, que são cristais com dimensões microscópicas, distribuídos numa organização prismática, e embebidos em uma matriz orgânica que corresponde a, aproximadamente, 1% em volume do esmalte maduro (Fejerskov et al., 1984; Eisenmann, 2001). Esses cristais estão distribuídos numa organização prismática. Os prismas possuem comprimento variando entre 4 a 7 μm , dispostos sequencialmente, tendo seu início na junção amelo-dentinária e terminando, quase sempre, na porção externa (Gwinnett, 1992). Os ameloblastos são as células responsáveis pela formação desse tecido, estando envolvidos na síntese e secreção das proteínas da matriz e na mineralização do esmalte.

Durante o processo de mineralização da coroa dentária, os ameloblastos produzem uma grande quantidade de matriz orgânica nas primeiras fases de desenvolvimento. Com o processo de maturação, a matriz orgânica é gradativamente substituída por material inorgânico (Gwinnett, 1992). A água é encontrada em quantidade significativamente maior em relação aos constituintes orgânicos (mais de 4% em volume). Aproximadamente, 25% do volume de água estão ligados aos cristalitos, provavelmente associados à matriz orgânica, e funcionam como meio de hidratação, circundando os cristalitos que compõem os prismas de esmalte (Crabb et al., 1963).

Microscopicamente, observam-se regiões de esmalte aprismático, interprismático e prismático. O esmalte interprismático corresponde à estrutura que se encontra entre os prismas possuindo menor grau de mineralização (Abramovich, 1999). Na camada aprismática, a orientação dos cristais de hidroxiapatita é perpendicular à superfície, e uniformemente arranjados, paralelos entre si, diferindo da região prismática, subjacente, onde ocorrem variações nas orientações dos cristais (Gwinnett, 1967; Newman & Poole, 1974; Fava et al., 1997). O esmalte prismático possui maior quantidade de prismas, dispostos em colunas, que atravessam toda a espessura do tecido, desde o limite amelodentinário até a superfície do dente (Fava et al., 1999; Abramovich, 1999).

Na literatura, alguns autores relatam a existência de uma camada aprismática no esmalte dos dentes decíduos, mais espessa e uniforme, em comparação ao esmalte dos dentes permanentes (Fava et al., 1993;1997). Segundo Mortimer (1970), o esmalte de dentes decíduos apresenta duas diferenças principais, comparado ao dos permanentes: 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, cuja principal função estrutural 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% de material inorgânico, 18% de material orgânico e 12% 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.

A composição estrutural da dentina inclui canalículos orientados, denominados túbulos dentinários. 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, 2009; Tronstad, 1973). Os túbulos convergem na câmara pulpar, portanto a densidade tubular e a orientação variam de acordo com a localidade no tecido. Esses inúmeros túbulos atravessam toda a espessura da dentina e contêm fluido tubular, sendo que a área relativa, ocupada pelos fluidos, diminui na medida em que eles se afastam da câmara pulpar. Além disso, apresentam as extensões celulares dos odontoblastos que se comunicam com a polpa, conferindo a característica de vitalidade pulpar. Os túbulos dentinários são vias de difusão de agentes nocivos e de transmissão de estímulos sensitivos ao tecido pulpar. (Mjör et al., 2009).

Alguns autores compararam a estrutura dentinária de dentes decíduos e permanentes e, neste sentido, Garberoglio et al. (1976) e Koutsi et al. (1994) afirmaram que 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) relataram que a densidade numérica dos túbulos dentinários é maior em dentes decíduos, com diminuição da área de dentina intertubular. De acordo com Hirayama et al.(1986), 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 função das variações na composição química, na morfologia e nas características fisiológicas (Mortimer, 1970; Sonju CLasen & Ruyter, 1997), dentes decíduos e permanentes respondem diferentemente aos desafios ácidos. Dessa forma, as diferenças entre estes substratos podem influenciar na velocidade de progressão de lesões cariosas e erosivas, bem como nos procedimentos restauradores adesivos (Pitts, 1983; Wang et al., 2006). Alguns estudos demonstram maior susceptibilidade à erosão do esmalte de dentes decíduos, comparado ao esmalte de dentes permanentes (Amaechi et al., 1999; 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). Atualmente, a exata composição e micromorfologia do substrato de dentes decíduos e permanentes ainda são pouco estudadas e conhecidas, e a literatura existente apresenta resultados controversos.

A maioria dos trabalhos explora tais substratos de maneira isolada e, frequentemente, os resultados de pesquisas, realizadas em dentes permanentes, são extrapolados para os dentes decíduos. Assim, tão relevante quanto os trabalhos existentes nos diferentes substratos, é o conhecimento detalhado desses

mesmos tecidos em que são realizados os testes que avaliam as propriedades físico-químicas dos materiais aplicados.

Dessa forma, a comparação entre o dente 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. Técnicas novas têm permitido um maior conhecimento das estruturas que compõem o tecido dental.

Diante do exposto, torna-se fundamental a realização de uma análise comparativa entre esses substratos, para que protocolos preventivos e restauradores específicos e efetivos sejam estabelecidos.

PROPOSIÇÃO

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi realizar uma análise comparativa *in vitro* de dentina e esmalte em dentes decíduos e permanentes , abordando a morfologia, composição e fases químicas de diferentes regiões dos substratos.

MATERIAL E MÉTODO

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Aspectos éticos

A etapa laboratorial deste trabalho foi iniciada após aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (processo n. 2008.1.1168.58.3).

3.2 Delineamento experimental

Os fatores em estudo são a morfologia de diferentes regiões e a composição qualitativa e quantitativa do esmalte e da dentina.

As variáveis de resposta qualitativas são a análise da morfologia das diferentes regiões dos substratos, por meio de microscopia eletrônica de varredura e de microscopia óptica e a identificação dos compostos minerais, presentes no esmalte e dentina, por meio da difração de raio X e espectrometria de energia dispersiva de raio X (EDX).

As variáveis de respostas quantitativas foram a determinação da densidade numérica (mm^2), do diâmetro da embocadura dos túbulos dentinários, da espessura da dentina peritubular, da quantidade e diâmetro dos prismas de

esmalte, por meio das fotomicrografias e da quantificação dos íons presentes nestes substratos, por meio da espectrometria de energia dispersiva de raio X (EDX).

A amostra do experimento foi constituída de 11 dentes decíduos e 11 dentes permanentes, divididos aleatoriamente para os testes empregados: MEV (n=4); EDX (n=4); Difração de raio X (n=3); Microscopia Óptica (n=4).

3.3 Seleção dos dentes

Os dentes foram limpos com curetas periodontais, 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, com aumento de 10X (Carl Zeiss – Jena), com o intuito de detectar alterações de estrutura ou trincas que pudessem comprometer os resultados deste estudo. Foram selecionados onze segundos molares decíduos hígidos, com dois terços de raiz, e onze terceiros molares, irrompidos com a formação radicular completa, e em função, armazenados por um período de até seis meses após a avulsão. Esses dentes foram provenientes do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP.

3.4 Análise em Microscópio Eletrônico de Varredura

Para a realização da MEV, os dentes foram levados a um equipamento de corte seriado (Minitom, Struers A/S, Copenhagen, DK-2610, Denmark), dotado de um disco diamantado (#7015, KG Sorensen, Barueri, 06454-920, Brasil) refrigerado com água, e tiveram suas raízes seccionadas, 3 mm abaixo da junção amelocementária. Quatro dentes decíduos e quatro permanentes foram seccionados, em corte transversal, no sentido méso-distal, obtendo-se duas secções de cada dente.

Primeiramente, as secções foram imersas por 24h em solução de glutaraldeído (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) a 3%, com tampão de cacodilato de sódio 0,05 e pH 7,0 (Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt, Germany) e mantidos sob refrigeração a 4°C. Após a armazenagem as secções foram lavadas por 1 hora com água destilada.

Na sequência, a superfície plana seccionada foi lixada com lixa d'água de granulação #600 (Norton S/A) e #1200 por cinco minutos, sob refrigeração, e então polidas com feltro embebido em alumina de 0,5µm. Nesta etapa a espessura do esmalte e da dentina dos espécimes foi mensurada com o auxílio de um paquímetro universal com leitura eletrônica (DIGIMATIC CALIPER mitutoyo-Absolute-número série BB 071467), com precisão de 0,01 mm, no sentido superfície/JAD no esmalte e no sentido JAD/teto da câmara pulpar, na dentina.

Os espécimes foram limpos com ácido, sendo o esmalte condicionado com ácido fosfórico a 35% por 15 segundos e lavado durante 15s, e a dentina foi condicionada com EDTA a 24% por 15 segundos e lavada durante 15s e então levados ao ultrassom (ultrasonic Clearner T-1449-D. Odontobrás Ind. E Com., 14075-060, Ribeirão Preto-SP Brasil) durante 10 minutos. Sequencialmente, realizou-se a desidratação em graus crescentes de etanol: 25% (20 minutos), 50% (20 minutos), 75% (20 minutos), 95% (30 minutos), 100% (60 minutos).

Após a desidratação, os espécimes foram submetidos a um processo de secagem química, com o objetivo de minimizar as alterações da superfície a ser examinada, favorecendo a deposição subsequente da camada de ouro, a fim de tornar o campo a ser visto mais nítido. Para a secagem química, os espécimes foram imersos em solução de HMDS (Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, D-64293 Darmstadt, Germany) durante 10 minutos. Todos esses procedimentos foram realizados no interior de uma capela de exaustão de gases.

Depois da secagem, os corpos-de-prova foram fixados em *stubs* com auxílio de uma fita adesiva dupla-face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washignton, PA 19034, USA) e a cobertura com ouro foi realizada em aparelho de metalização a vácuo (SDC 050, Bal-Tec AG, Foehrenweg 16, FL-9496 Balzers, Liechtenstein), com pressão de 0,01mbar, corrente de 40mA, distância de trabalho de 50mm, tempo de cobertura de 120 segundos e espessura média de deposição de 20 a 30nm.

Concluída a etapa de preparação, os espécimes foram levados ao microscópio eletrônico de varredura de alta resolução (Philips-FEG, Laboratório de

Caracterização Estrutural do DEMa – LCE-DEMa/UFsCAR-SP, Brasil) pertencente ao Laboratório do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos, São Paulo/Brasil. As regiões mais representativas de cada área analisada foram fotografadas nos aumentos de 500x, 1500x e 5000x .

Foram analisadas diferentes regiões do esmalte e da dentina de dentes decíduos e permanentes. No esmalte, foram observadas a região superficial e a próxima à junção amelo-dentinária. Na dentina analisaram-se as áreas próximas à junção amelo-dentinária, a região central e a região próxima à polpa coronária. Para mensuração da densidade numérica e diâmetro dos túbulos dentinários, da espessura da dentina peritubular e dos prismas do esmalte, foram utilizadas as fotomicrografias, realizadas na MEV com o auxílio do software AxioVision (Zeiss). Os achados microscópicos foram analisados estatisticamente por método não-paramétrico teste de Kruskal-Wallis a significância de 5% e foi realizada a análise morfológica com comparação visual e qualitativa dos substratos.

3.5 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX)

Para análise da composição dos íons, foi realizada a EDX com os mesmos espécimes preparados para a Microscopia Eletrônica de Varredura e nas mesmas localidades: esmalte superficial, e próximo à junção amelo-dentinária, dentina próxima à junção amelo-dentinária, região central e região da dentina próxima à polpa coronária.

A Energia Dispersiva por Fluorescência de Raio-X ou Espectrometria de Fluorescência de Raio-X (EDX) é um método para o estudo da composição de íons, no qual os elementos químicos de uma amostra podem ser identificados por meio do espectro de raios-X emitidos, determinando, então, a composição em porcentagem dos íons presentes. A EDX 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 íons presentes na amostra.

3.6 Análise por Difração de Raio X

A difratometria de raios X é uma das principais técnicas de caracterização microestrutural de materiais cristalinos. Permite o estabelecimento da estrutura tridimensional das moléculas, auxiliando no entendimento das funções biológicas da molécula analisada. A técnica é particularmente importante na análise de moléculas que apresentam estruturas repetitivas. Os raios-X são uma forma de radiação eletromagnética, assim como a luz, com comprimento de onda de 0,1nm. Esses raios passam através da molécula em estudo, que deve estar em estado altamente purificado, cristalizado. Uma pequena fração dessa

radiação pode ser desviada por átomos da amostra em função das suas características estruturais. Se a amostra estiver bem cristalizada, as ondas desviadas pelas estruturas ordenadas repetitivamente vão reforçar outras em determinados pontos. Ao final, a posição e a intensidade de cada ponto correspondem ao padrão de difração de raio-X (mapa de elétron-densidade).

Para este estudo, empregaram-se três dentes decíduos e três dentes permanentes seccionados no sentido mésio-distal, com o auxílio de um equipamento de corte seriado (Minitom, Struers A/S, Copenhagen, DK-2610, Denmark), dotado de um disco diamantado (#7015, KG Sorensen, Barueri, 06454-920, Brasil) refrigerado com água. As secções foram então separadas e preparadas para análise.

Nas amostras de esmalte, removeu-se toda a dentina, por meio do uso de alta rotação e pontas diamantadas, obtendo-se uma amostra de no mínimo, 1 mm de espessura. Da mesma forma, procedeu-se na amostra de dentina removendo-se o esmalte com pontas diamantadas em alta-rotação, obtendo-se amostras de, no mínimo, 1 mm de espessura. As amostras foram então analisadas no Laboratório de Apoio e Uso Geral do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos. O ensaio de difração de Raio X foi realizado por meio do difratômetro de raio X RIGAKU (modelo Geigerflex; λ 1,54056 Å; 40 kV; 25 mA).

3.7 Análise em Microscópio Óptico

Foram preparados quatro segundos molares decíduos e quatro terceiros molares. Os dentes foram submetidos à fixação em solução de formol tamponado a 10%, durante 72h, à temperatura ambiente. Posteriormente, os dentes foram imersos em um recipiente de vidro, contendo uma solução à base de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), composta 93,05g – EDTA Disodium Salt Dihydrate – merck- Darmstadt, água destilada (200 ml) e hidróxido de sódio 0,1 N (Hidróxido de Sódio p.a.®- Casa da Química Ind. e Com. Ltda- Diadema – Brasil) e submetida à desmineralização, acelerada pelo forno de microondas (Sharp Carousel® - São Paulo – Brasil). Para a realização deste procedimento, o recipiente contendo os espécimes foi parcialmente imerso em outro recipiente de vidro com água e gelo, para retardar o aumento da temperatura e, conseqüentemente, incrementar o tempo de ação das microondas. O forno de microondas operou na frequência de trabalho de 2450 MHz, correspondendo a uma frequência de onda no vácuo de 12,2 cm, potência máxima nominal de 700 W, regulado em potência média/máxima à temperatura de 30 °C para evitar alterações teciduais. Os dentes foram irradiados por 10 minutos, com intervalos de 5 minutos entre as radiações, por um período de 4 horas/dia. A cada 6 irradiações, os espécimes foram lavados com solução tampão de cacodilato de sódio a 98% tamponado, pH 7,4, e renovada a solução à base de EDTA. No intervalo entre os dias, o material permaneceu na solução desmineralizadora sem agitação, à temperatura ambiente.

A completa desmineralização das amostras, avaliada por meio da penetração de uma agulha nos tecidos para verificação da sua consistência e por meio de exame radiográfico dos espécimes, foi obtida em aproximadamente 30 dias. Concluída a desmineralização, os espécimes foram neutralizados em solução de sulfato de sódio a 5% (Sulfato de Sódio Anhído – J.T. Baker – Xalostoc – México) por 24 horas, lavados em água corrente por 24 horas, desidratados em concentrações crescentes de álcool (Álcool Etílico Absoluto Anhidro® - J.T. Baker – Xalostoc – México) diafanizadas em xilol (Xilol® - Merck – Darmstadt – Alemanha), de acordo com a rotina histológica (Tabela 1). Os blocos contendo os dentes individualizados foram reduzidos pela microtomia a cortes seriados longitudinais com 0,5 mm de espessura. As secções foram planificadas e polidas manualmente, utilizando-se lixas d'água de granulação 400 a 1200, até chegar a uma espessura aproximada de 5,0 μm . A seguir, os cortes foram incluídos em lâminas.

Para avaliação histológica, as lâminas foram coradas pelo Tricrômico de Mallory para coloração das fibras colágenas. As imagens foram capturadas e digitalizadas para análise das superfícies em microscópio óptico (Zeiss). Para a avaliação histológica, empregou-se o microscópio, com aumento de 10X e 40X, com a finalidade de analisar a disposição das fibras colágenas.

A metodologia deste trabalho está representada esquematicamente nas Figuras 1,2 e 3.

Figura 1. Fluxograma da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia Dispersiva de Raio X (EDX)

Figura 2. Fluxograma da Difração de Raio X

Figura 3. Fluxograma da Microscopia Óptica

10min
11 - 5min
6X

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Esmalte dentário

Em todos os espécimes foi realizada a mensuração da espessura do substrato, observando que a espessura média do esmalte nos dentes decíduos foi de $\approx 1,14\text{mm}$, e nos dentes permanentes foi de $\approx 2,58\text{ mm}$.

4.1.1 Análise em MEV

Na análise morfológica do esmalte, por meio da microscopia eletrônica de varredura, pôde-se observar que, em relação ao diâmetro da cabeça dos prismas de esmalte, houve semelhança entre os dentes decíduos e permanentes, ocorrendo um diâmetro na JAD ligeiramente menor, porém não estatisticamente significativo ($p > 0,05$) (Tabela 1, Figuras 4 e 5).

Tabela 1. Média, desvio-padrão e mediana do diâmetro da cabeça dos prismas de esmalte (μm) dos dentes decíduos e permanentes para as diferentes regiões.

	Superfície	JAD
Decíduo	$3,47 \pm 0,48$ (3,38)	$3,22 \pm 0,45$ (3,18)
Permanente	$4,34 \pm 0,95$ (4,30)	$3,84 \pm 0,73$ (3,55)

Com relação à densidade numérica dos prismas de esmalte, o valor médio obtido das regiões analisadas demonstrou que, para ambas as dentições

existem um número ligeiramente maior de prismas, próximo à JAD, quando comparado com a região de superfície, porém não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). No entanto o esmalte dos dentes decíduos apresentou maior número de prismas que nos permanentes, principalmente em JAD sendo estatisticamente significativa ($p<0,05$) (Tabela 2, Figuras 4 e 5).

Tabela 2. Valores médios, desvio padrões e mediana obtidos na densidade de prismas de esmalte dos dentes decíduos e permanentes nas diferentes regiões.

	Superfície	JAD
Decíduo	14.149±1.009 (14.004)	15.244±648 (15.286)
Permanente	13.582±600 (13.582)	14.010±391 (14.114)

4.1.2 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX)

Na análise da composição e quantificação dos íons por meio da Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX), no esmalte, foram analisadas as porcentagens de sódio, magnésio, fósforo e cálcio, na superfície e próximo à junção amelodentinária. Observou-se que a porcentagem de sódio foi maior em dentes decíduos, e a porcentagem de magnésio, fósforo e cálcio foi maior em dentes permanentes, nas duas regiões (Tabela 3).

TABELA 3 – Percentual de elementos químicos (%) presentes no esmalte de ambas os dentes para as diferentes regiões.

Elemento químico	SUP-P	SUP-D	JAD-P	JAD-D
Na	0,44	0,57	-	0,78
Mg	0,23	0,25	-	0,34
P	21,19	17,23	21,11	17,36
Ca	52,50	35,11	56,62	35,80

Figura 4. Fotomicrografias em Esmalte da Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 500x, 1500x e 5000x

A, C, E. Esmalte Superficial de Dentes Decíduos

B, D, F. Esmalte superficial de Dentes Permanentes

ESMALTE

A

B

C

D

E

F

Figura 5. Fotomicrografias em Esmalte da Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 500x, 1500x e 5000x

A, C, E. Esmalte Próximo à Junção Amelo Dentinária de Dentes Decíduos

B, D, F. Esmalte Próximo à Junção Amelo Dentinária de Dentes Permanentes

ESMALTE

A

B

C

D

E

F

4.1.3 Difração de Raio-X

Os difractogramas de raios x das amostras de esmalte estão representados na figura 6. As fases mais representativas, presentes em todas as amostras analisadas por difração de raio X, evidenciada pela intensidade do pico, são: hidroxiapatita, silicato de cálcio, fosfato de cálcio hidratado, silicato fosfato de cálcio, fosfato de cálcio e potássio para dentes decíduos; hidroxiapatita, silicato de cálcio, silicato de cálcio hidratado e fosfato de cálcio hidratado para dentes permanentes.

Figura 6. Difração de Raio X do Esmalte

Esmalte

Decíduo

Permanente

4.2. Dentina coronária

Em todos os espécimes foi realizada a mensuração da espessura do substrato dentinário, observando que a espessura média da dentina nos dentes decíduos foi de $\approx 3,02$, e nos dentes permanentes foi de $\approx 5,95$ mm.

4.2.1 Análise em MEV

Na análise morfológica da dentina, com relação ao diâmetro dos túbulos dentinários, pôde-se observar que, de modo geral, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre o dente decíduo e o permanente. Além disso, verificaram-se um aumento significativo gradativo e significativo ($p < 0,05$) do diâmetro dos túbulos dentinários da JAD em direção à polpa, para ambas as dentições.

Na análise comparativa das diferentes regiões estudadas, pôde-se observar que, na região da JAD, os túbulos dos dentes decíduos apresentaram menor diâmetro, sendo estatisticamente diferente dos valores verificados na mesma região da dentina dos dentes permanentes ($p < 0,05$). Contudo, para a porção central da dentina, constatou-se que o diâmetro dos túbulos dentinários dos dentes decíduos foi significativamente maior que na região correspondente dos dentes permanentes ($p < 0,05$). Na região próxima à polpa, não foi observada diferença quanto ao diâmetro dos túbulos entre as duas dentições ($p > 0,05$) (Tabela 4; Figuras 7- 9).

Tabela 4. Média, desvio-padrão e mediana do diâmetro dos túbulos dentinários (μm) dos dentes decíduos e permanentes para as diferentes regiões da dentina.

	JAD	Porção central	Próximo a polpa
Decíduo	0,69 $\pm$ 0,10 (0,70)	1,69 $\pm$ 0,15 (1,77)	2,26 $\pm$ 0,35 (2,21)
Permanente	0,90 $\pm$ 0,04 (0,90)	1,34 $\pm$ 0,22 (1,25)	2,52 $\pm$ 0,06 (2,52)

Na análise da densidade numérica dos túbulos dentinários dos dentes decíduos e permanentes, pôde-se observar que, de modo geral, não houve diferença significativa entre as dentições estudadas ($p>0,05$). Porém, em relação às profundidades, constatou-se um aumento significativo gradativo a partir da JAD em direção à polpa ($p<0,05$).

Na análise comparativa das diferentes regiões estudadas, observou-se que a quantidade de túbulos dentinários foi semelhante para as duas dentições ($p>0,05$), independentemente da profundidade analisada. Constatou-se apenas uma tendência de haver um número de túbulos ligeiramente maior na dentina dos dentes permanentes em relação aos dentes decíduos (Tabela 5; Figuras 7-9).

Tabela 5. Média, desvio-padrão e mediana da densidade dos túbulos dentinários nos dentes decíduos e permanentes para as diferentes regiões da dentina.

	JAD	Porção central	Junto a polpa
Decíduo	6.224 $\pm$ 2.127 (6.159)	13.534 $\pm$ 7.387 (12.253)	28.368 $\pm$ 17.139 (21.329)
Permanente	7.415 $\pm$ 2.312 (7.650)	16.791 $\pm$ 6.661 (13.096)	32.618 $\pm$ 15.062 (29.822)

Na análise comparativa das diferentes regiões estudadas, pôde-se observar que a espessura da dentina peritubular não variou significativamente entre as regiões. O dente permanente apresentou maior espessura em todas as regiões, observando-se diferença significativa entre os substratos ($p < 0,05$) (Tabela 6). Pode-se observar a ausência de dentina peritubular na região próxima a polpa (Figura 9e e 9f).

Tabela 6. Valores médios obtidos da espessura da dentina peritubular dos dentes decíduos e permanentes nas diferentes regiões.

	JAD	Porção central
Decíduo	0,91±0,03 (0,91)a	0,59±0,01 (0,59)A
Permanente	1,16±0,03 (1,16)b	0,98±0,03 (0,97)B

Análise em coluna - Letras diferentes diferença estatística significativa ($p < 0,05$)

4.2.2 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX)

Na dentina, foram analisadas as porcentagens de magnésio, fósforo e cálcio, próximo à JAD, na região central da dentina, e região próxima à polpa, sendo que a porcentagem de magnésio foi maior em dentes decíduos, e a porcentagem de fósforo e cálcio, maior em dentes permanentes, nas três regiões avaliadas (Tabela 7).

TABELA 7 – Percentual de elementos químicos (%) presentes no tecido dentinário coronário de ambos os dentes nas diferentes regiões.

Elementos químicos	JAD Perm	JAD Dec	Central Perm	Central Dec	Polpa Perm	Polpa Dec
Mg	-	0,95	0,52	1,09	-	1,07
P	19,08	15,61	18,96	15,61	16,73	15,57
Ca	53,06	33,48	51,52	31,91	47,86	31,51

Figura 7. Fotomicrografias em Dentina da Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 500x, 1500x e 5000x

A, C, E. Dentina Próximo à Junção Amelo Dentinária de Dentes Decíduos

B, D, F. Dentina Próximo à Junção Amelo Dentinária de Dentes Permanentes

DENTINA

A

B

C

D

E

F

Figura 8. Fotomicrografias em Dentina da Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 500x, 1500x e 5000x

A, C, E. Dentina da Região Central de Dentes Decíduos

B, D, F. Dentina da região Central de Dentes Permanentes

DENTINA

A

B

C

D

E

F

Figura 9. Fotomicrografias em Dentina da Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 500x, 1500x e 5000x

A, C, E. Dentina Próximo à Polpa de Dentes Decíduos

B, D, F. Dentina Próximo à Polpa de Dentes Permanentes

DENTINA

A

B

C

D

E

F

4.2.3 Difração de Raio-X

Os difractogramas de raios x das amostras de dentina estão representados na figura 10. As fases presentes em todas as amostras analisadas por difração de raio x, evidenciadas pela intensidade do pico, são: hidroxiapatita, fosfato de cálcio e fosfato de cálcio hidratado para os dentes decíduos; e, silicato de cálcio hidratado, fosfato de cálcio e hidroxiapatita para os dentes permanentes.

Figura 10. Difração de Raio X da Dentina

Dentina

Decíduo

- Fosfato de Cálcio Hidratado
- ◆ Hidroxiapatita
- Fosfato de Cálcio

Permanente

- ▼ Silicato de Cálcio Hidratado
- ◆ Fosfato de Cálcio
- Hidroxiapatita

4.4 Microscopia Óptica

Na microscopia óptica, foi realizada a análise de colágeno em dentina de dentes decíduos e permanentes e, por meio da coloração Tricômico de Mallory, aparentemente o dente decíduo apresenta mais colágeno, quando comparado ao dente permanente.

Foi observado que a distribuição do colágeno foi diferente entre os dois substratos. Aparentemente, o dente decíduo apresenta uma disposição de entrelaçamento das fibras colágenas diferente da disposição observada nos dentes permanentes, demonstrando uma maior frouxidão entre as fibras (Figuras 11 a 13).

MICROSCOPIA ÓPTICA

Figura 11. Fotomicrografias em Dentina da Microscopia Óptica nos aumentos de 10x e 40x

**A, C. Dentina Próximo à Junção Amelo Dentinária de Dentes Decíduos
B, D. Dentina Próximo à Junção Amelo Dentinária de Dentes
Permanentes**

MICROSCOPIA ÓPTICA

Figura 12. Fotomicrografias em Dentina da Microscopia Óptica nos aumentos de 10x e 40x

**A, C. Dentina da Região Central de Dentes Decíduos
B, D. Dentina da região Central de Dentes Permanentes**

MICROSCOPIA ÓPTICA

Figura 13. Fotomicrografias em Dentina da Microscopia Óptica nos aumentos de 10x e 40x

A, C. Dentina Próximo à Polpa de Dentes Decíduos

B, D. Dentina Próximo à Polpa de Dentes Permanentes

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Estudos comparativos entre dentes decíduos e permanentes são de fundamental importância, uma vez que permitem a padronização do método de análise da pesquisa e a eliminação do fator de variação, representado pelo operador. O comportamento diferente desses substratos, frente aos procedimentos erosivos e restauradores adesivos, descritos na literatura, podem ser justificados pelas diferenças estruturais e na composição de ambos os substratos (Amaechi et al., 1999; Johansson et al., 2001; Burrow et al., 2002; Senawongse et al., 2004; Courson et al., 2005).

Em face das análises do esmalte dental, observou-se, por meio da microscopia eletrônica de varredura, que houve semelhança em relação ao diâmetro da cabeça dos prismas entre dentes decíduos e dentes permanentes e entre a região superficial e a próxima à JAD. Neste estudo, o diâmetro médio dos prismas de esmalte variou de 3,22 μm a 3,47 μm no dente decíduo, e de 3,84 μm a 4,34 μm no dente permanente. Resultados diferentes foram observados por Fosse (1968) e Mortimer (1970) nos quais observaram valores superiores, tendo o diâmetro dos prismas do esmalte em média de 6-10 μm em dentes permanentes; nos dentes decíduos, a variação do diâmetro foi de 4-7 μm .

Na presente investigação, a densidade numérica dos prismas, no esmalte do dente permanente, foi de 8.094/mm² na região superficial, e de 13.485/mm² na região próxima à JAD. Resultados divergentes foram observados por Fosse (1964), que encontrou um número médio de 21.904 prismas/mm² no

esmalte externo e de 47.089 prismas/mm² na região mais interna do esmalte de dente permanente, ressaltando a existência de uma maior densidade prismática nas regiões mais internas do esmalte, condizente com o presente estudo.

Ainda, em relação à densidade numérica dos prismas, observou-se que o esmalte do dente decíduo apresenta um número maior de prismas em comparação ao dente permanente, independentemente da região analisada, e que essa densidade aumentou em direção à junção amelo-dentinária nos dois substratos.

Essa característica morfológica confere uma maior espessura da região periférica dos prismas, referida como bainha do prisma (Gwinnett, 1966), no esmalte dos dentes permanentes, em comparação com os dentes decíduos. Tal disposição viabiliza o dinamismo do esmalte do dente permanente, conferindo-lhe uma maior permeabilidade e maior capacidade de realizar trocas iônicas, configurando os processos de desmineralização e remineralização, traduzindo a relação dinâmica de trocas iônicas entre o dente e o meio bucal.

Apesar de a literatura evidenciar a existência de uma camada aprismática na superfície do esmalte, na qual o arranjo ultramicroscópico dos cristalitos difere daquele encontrado nos prismas, tal camada não foi observada em ambos os substratos. A camada aprismática no esmalte do dente decíduo é mais espessa e uniforme em comparação ao dente permanente (Fava et al., 1993;1997). Nesse sentido, Fava et al. (1993) relataram que, em terceiros molares não irrompidos, a espessura da camada aprismática aumentou da região oclusal (3,63 µm) para o terço médio (5,28 µm) e cervical (8,11 µm), e que, em

molares decíduos, a média da espessura foi de 7,26 μm em todas as regiões. Os mesmos resultados foram obtidos por outros autores, estudando dentes decíduos anteriores: a média da espessura da camada aprismática encontrada foi de 4,67 μm (Carassi et al., 1986; Costa et al., 1996). A presença dessa camada pode interferir nos processos de desmineralização ácida do esmalte do dente decíduo (Kuhar et al., 1997), pois uma variação brusca no arranjo dos cristalitos é observada, com as unidades inorgânicas dispostas paralelamente umas às outras e perpendiculares à superfície externa (Kodaka et al., 1989; Fava et al., 1993; Fava et al., 1997; Costa et al., 1996). Essa disposição dos cristalitos também confere um aumento no grau de mineralização, observado radiograficamente como uma banda radiopaca (Gwinnett, 1992).

Alguns autores sugerem um aumento no tempo do condicionamento ácido nos procedimentos adesivos, em esmalte de dentes decíduos, visando ao tratamento da camada aprismática (Bozalis et al., 1979; Hosoya, 1991). No entanto outros autores afirmam que 15 segundos são suficientes para produzir um padrão de condicionamento ácido favorável à penetração dos materiais resinosos (Garcia-Godoy e Gwinnett, 1991; Gwinnett et al., 1992). No presente trabalho, não foi possível observar a camada aprismática do esmalte em ambos os substratos, pois os dentes utilizados estavam presentes na cavidade bucal por aproximadamente dois anos e, portanto, sujeitos aos processos de desgaste fisiológico do esmalte (Fava et al., 1999).

Em relação à análise morfológica da dentina, os resultados do presente trabalho mostraram que o número de túbulos dentinários de dentes decíduos e

permanentes aumenta a partir da JAD em direção à polpa. Tais dados estão em concordância com outras pesquisas em que os autores estudaram diferentes profundidades da dentina (Costa et al., 2002b; Fosse et al., 1992; Garberoglio e Brannstrom, 1976; Sumikawa et al., 1999).

Na presente pesquisa, os valores encontrados em dentes decíduos foram: 6.224/mm² na dentina próxima à JAD; 13.534/mm² na dentina da porção central; e 28.368/mm² na dentina próxima à polpa. Esses dados foram semelhantes aos relatados na literatura por Costa et al. (2002b) que encontraram valores de 9.614/mm² – JAD e 17.018/mm² – central e 23.114/mm² – polpa, e por Couve & Onetto (1987) que apresentaram valores de 10.000/mm² – JAD e 20.000/mm² – polpa, estudando germes de dentes decíduos. No entanto Koutsi et al. (1994) encontraram valores superiores aos do presente estudo nas regiões de dentina superficial e central (17.433/mm² e 20.433/mm²) e semelhantes na região de dentina profunda (26390/mm²). Ruschel & Chevitarese (2002), utilizando, segundos molares decíduos, observaram uma densidade superior de túbulos na região central da dentina (25.211 túbulos/ mm²).

Na dentina dos dentes permanentes, em relação à densidade dos túbulos, os valores encontrados foram: 7.415/mm² na dentina próxima à JAD; 16.791/mm² na dentina da porção central; e 32.618/mm² na dentina próxima à polpa. Resultados divergentes foram encontrados por Garberoglio & Brannstrom (1976), que relataram um número de túbulos próximo à polpa de 45.000/ mm², na região central da dentina de 29.500/mm² e próximo à JAD de 20.000/mm², assim como Zavgorodniy et al. (2008), que observaram valores de 34.000

túbulos/mm² na região central. Outros estudos apresentaram resultados diferentes, relatando aproximadamente 51.000 túbulos/mm² (Fosse et al., 1992) e 43.000 túbulos/mm² próximo à superfície pulpar em dentes permanentes (Whittaker & Kneale, 1979; Koutsi et al., 1994; Brajdic et al., 2008).

Considerando o diâmetro dos túbulos dentinários em dentes decíduos, o presente estudo apresentou valores médios, variando de 0,69 a 2,26 µm, discordando do estudo de Hirayama et al. (1986) cujos diâmetros variaram de 2 – 15 µm na dentina coronária de incisivos decíduos. Entretanto os dados obtidos estão em concordância com os de Watanabe (1988), que relatou valores variando de 0,7 – 2,6 µm, e com os de Costa et al. (2002b), que observaram valores de 0,75 µm na dentina próxima a JAD, 1,13 µm na dentina da região central, e 1,52 µm na região da dentina próxima a polpa. Outros autores também relataram resultados semelhantes aos deste estudo, nos quais o diâmetro dos túbulos dentinários variou de 1,39 µm a 1,94 µm (Sumikawa et al., 1999), de 0,96 µm a 1,29 µm (Koutsi et al., 1994) e de 1,0 µm na região central de segundos molares decíduos (Ruschel & Chevitarese, 2002). Tal divergência de resultados na literatura pode ser devida à procedência distinta das amostras bem como o grau de reabsorção que esses dentes sofreram. No presente estudo, empregaram-se dentes com, pelo menos, 2/3 de raiz, para que o processo de reabsorção não interferisse na dentina interna e, conseqüentemente, no diâmetro dos túbulos.

Nos dentes permanentes, observou-se que os dados encontrados para o diâmetro médio dos túbulos dentinários variaram de 0,9 a 2,52 µm, semelhantes aos resultados reportados por Garberoglio & Brannstrom (1976), cujos valores

variaram de 2,5 μm próximo à polpa, 1,2 μm na região central e 0,9 μm na região periférica, e por Brajdic et al.(2008) que observaram 2,58 μm próximo à polpa, 1,52 μm na região central e 0,67 μm na região periférica da dentina de dentes permanentes. Por outro lado, Zavgorodniy et al. (2008) observaram valores superiores aos do presente estudo, no diâmetro dos túbulos, na região central da dentina (2,19 μm).

Na análise morfológica da dentina, com relação ao diâmetro e ao número dos túbulos dentinários, pôde-se observar que, de modo geral, houve semelhança entre dentes decíduos e permanentes. Constatou-se apenas uma tendência a um maior número de túbulos na dentina dos dentes permanentes. Resultados semelhantes foram relatados por Shilke et al. (2000), analisando molares decíduos e permanentes. No entanto Koutsi et al. (1994) relataram valores de densidade numérica e diâmetro dos túbulos menores em molares decíduos, em comparação aos dentes permanentes, e justificaram a menor permeabilidade encontrada nos dentes decíduos. Hirayama et al. (1985), observaram que o diâmetro dos túbulos em dentes decíduos foi menor do que o dos dentes permanentes, em função de uma maior espessura da dentina peritubular neste substrato. Por outro lado, Sumikawa et al. (1999) relataram que o diâmetro dos túbulos dos dentes decíduos anteriores foi maior em comparação à dentina do dente permanente, sem analisar, no entanto, dentes permanentes.

Alguns autores mencionaram a existência de túbulos, com diâmetro variando de 5 – 40 μm , os quais denominaram de túbulos gigantes, os quais teriam um papel relevante no desenvolvimento de lesões cariosas na dentina e na

sensibilidade pulpar (Liu et al., 2000; Agematsu et al., 1997; 2005). Tais estruturas morfológicas foram observadas somente em dentes anteriores e, principalmente, em dentes decíduos, sendo que Sumikawa et al. (1999) observaram essas estruturas em incisivos decíduos. Como no presente estudo, foram analisados molares decíduos, essas estruturas não foram observadas.

No presente trabalho, pôde-se constatar que a dentina peritubular foi mais espessa no dente permanente em comparação ao dente decíduo, contradizendo o trabalho de Hirayama et al. (1986), que relataram uma espessura de dentina peritubular de 2 a 5 vezes maior no dente decíduo, com valores variando de 3 a 20 μm . Ainda: Costa et al. (2002a), afirmaram que a área de dentina peritubular foi cerca de três vezes maior do que a área de dentina tubular em dentes decíduos em todas as regiões analisadas. Contudo convém ressaltar que a dentina peritubular é mais mineralizada, e como o dente decíduo é menos mineralizado que o permanente, provavelmente, pode-se correlacionar tal fato com uma menor quantidade de dentina peritubular.

Neste estudo, a espessura da dentina peritubular diminuiu da JAD para a região próxima à polpa nos dois substratos estudados, praticamente não tendo sido observada próxima à polpa. Sumikawa et al. (1999) observaram valores de espessura da dentina peritubular de dentes decíduos de 0,92 em caninos e de 0,62 em incisivos laterais, inferindo que tal espessura diminui em direção à polpa, proporcionalmente ao aumento da densidade tubular.

Tais achados podem refletir-se diretamente no comportamento dos materiais adesivos, pois está comprovado, na literatura, que o diâmetro e o

número dos túbulos dentinários influenciam nos procedimentos adesivos. Esses procedimentos estão diretamente relacionados à permeabilidade da dentina, uma vez que a eficácia da maioria dos adesivos atuais depende da infiltração da resina no substrato dentinário (Koutsi et al., 1994; Pashley et al., 1993). A permeabilidade da dentina é essencial para a fisiologia e para os padrões de reação do complexo dentino-pulpar (Mjör, 2009).

As diferenças marcantes na quantidade e qualidade de cada elemento estrutural da dentina, nos diferentes substratos e nas diferentes localizações, implicam alterações nos procedimentos de adesão. Geralmente, a resistência de união é maior na dentina superficial ou próxima à JAD do que na dentina profunda (Pashley et al., 1995; Giannini et al., 2001), assim como na dentina dos dentes permanentes que na dentina dos dentes decíduos (Bordin-Aykroyd et al., 1992; Burrow et al., 2002; Senawongse et al., 2004; Courson et al., 2005). Isso se deve à diferença na quantidade de área de dentina intertubular disponível para adesão, conteúdo mineral e na diferença da umidade local. No presente trabalho, como a quantidade de túbulos dentinários foi ligeiramente maior na dentina do dente permanente em comparação ao dente decíduo, pode-se inferir que a quantidade de dentina intertubular no dente decíduo seria maior, como observado por Costa et al. (2002b).

Em relação ao conteúdo de cálcio e fósforo, os valores médios de porcentagem observados, neste estudo, no esmalte e dentina dos dentes permanentes, foram, respectivamente, de 54,56 / 21,15 e 50,77 / 18,2. Em tal contexto, Gedalla et al. (1970) relataram uma porcentagem de 33,0-35,5 de cálcio

e de 16,8-19,8 de fósforo na dentina de dentes permanentes. Derise et al. (1974) observaram concentrações de cálcio e fósforo de 37,1 e 18,1 no esmalte e de 26,7 e 13,6 na dentina de dentes permanentes.

A quantificação de íons por análise de EDX, de modo geral, revelou que o esmalte e a dentina do dente permanente apresentam concentrações de cálcio e fósforo aproximadamente duas vezes maior, em comparação com o dente decíduo. Confirmando tais resultados, a análise, por meio de microscopia óptica, revelou que o conteúdo de colágeno na dentina de dentes decíduos foi aparentemente maior. Em tal contexto, Hirayama (1990) relatou que as concentrações de cálcio e fósforo na dentina de dentes decíduos são menores do que em dentes permanentes. Em outro estudo, Hirayama et al. (1985) não observaram diferença no conteúdo de cálcio e fósforo na dentina inter e peritubular, entre dentes decíduos e permanentes. Lakoma e Rytomaa (1977) também não observaram diferenças no conteúdo de cálcio e fósforo entre o esmalte e a dentina de dentes permanentes em comparação com dentes decíduos. O menor conteúdo de cálcio e fósforo, reportados neste trabalho, no dente decíduo, poderia ser responsável pelo comportamento diferente desses substratos, frente aos desafios ácidos. Nör et al. (1996) relataram que a dentina do dente decíduo apresenta-se mais reativa ao condicionamento ácido, em comparação à dentina do dente permanente, ocasionando uma desmineralização mais profunda da dentina intertubular. Além disso, tem sido observado, na literatura, que a dureza e o módulo de elasticidade da dentina diminuem na medida em que se aproxima do tecido pulpar, tanto em dentes decíduos quanto

em dentes permanentes (Kinney et al., 1996; Wang e Weiner, 1998; Angker et al., 2003). Em função disso, alguns autores sugerem uma diminuição do tempo de condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos (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 especular que a densidade dos cristalitos no esmalte do dente decíduo seria menor, comparado à do dente permanente. Wilson e Beynon (1989) relataram que a densidade mineral no esmalte do dente decíduo é maior na região da superfície, em comparação com o dente permanente. Como cada cristal é separado de seu cristal adjacente por finos espaços intercristalinos, que formam uma fina rede de vias de difusão chamadas de microporos (Thylstrup & Fejerskov, 1995), o esmalte do dente decíduo apresentaria mais microporos, em comparação ao esmalte do dente permanente.

Essa característica - associada a uma menor espessura do esmalte do dente decíduo - poderia ser responsável pela coloração branco-leitosa desse substrato, visto que a coloração é resultante das diferenças nos índices de refração de luz entre a hidroxiapatita (1,62), água (1,33) e ar (1,0).

Durante a desmineralização, íons de hidrogênio são capazes de penetrar nos espaços intercristalinos do esmalte, desfazendo ligações moleculares, determinando a liberação de íons minerais do dente, diminuindo o diâmetro dos cristais de hidroxiapatita e, conseqüentemente, alargando os microporos. 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).

Ainda em relação à diferença do conteúdo inorgânico entre dentes decíduos e permanentes, vale lembrar que essa característica é a principal responsável por conferir resistência mecânica à estrutura dental. Seu arranjo molecular apresenta um papel fundamental nas propriedades mecânicas. É sabido que as moléculas de hidroxiapatita são organizadas de forma cristalina, mais especificamente em geometria hexagonal (Fremann et al. 2001; Tesh et al., 2001). Portanto a diferença no conteúdo mineral e no arranjo molecular entre esses dois substratos poderia explicar as diferenças encontradas na literatura quanto às propriedades mecânicas desses tecidos (Low et al., 2007). Kerebel et al. (1979) descreveram uma espessura de 26,3 nm dos cristais do esmalte do dente permanente e de 16,0 nm no esmalte do dente decíduo. Em contraste, Low et al. (2006; 2007) relataram que os cristais de hidroxiapatita, no esmalte de dentes decíduos, são maiores (185 nm) e mais rugosos do que os cristais presentes nos dentes permanentes (94 nm).

No presente trabalho, observou-se que a espessura do esmalte e da dentina dos dentes decíduos foi aproximadamente a metade da espessura do permanente concordando com os achados da literatura. Mortimer, 1970 e Low et al. 2007 verificaram que a espessura do esmalte dos dentes decíduos foi aproximadamente a metade da espessura dos permanentes, além de observar que o esmalte dos dentes decíduos é menos mineralizado e mais suscetível à fratura, quando comparado com o esmalte dos dentes permanentes.

As diferenças encontradas entre os resultados apresentados nos diversos estudos podem ser explicadas em função das características peculiares de cada elemento dental isoladamente, da idade e grupo de dentes analisados, da própria origem étnica dos dentes estudados e devido às diferenças metodológicas, como técnicas de corte e análises do substrato. Além disso, os trabalhos existentes, em relação ao estudo comparativo da microestrutura do esmalte e da dentina de dentes decíduos e permanentes, são escassos. Esse fato, aliado às diferenças nas metodologias empregadas nos estudos, definiu-se como um empecilho e um desafio para que os resultados da presente investigação pudessem ser comparados aos da literatura. Algumas peculiaridades próprias da dentina e do esmalte do dente decíduo, observadas no presente trabalho, sugerem possíveis condutas clínicas, distintas daquelas adotadas nos dentes permanentes. Em face disso, outros estudos se fazem necessários para o entendimento mais preciso da estrutura do dente decíduo, fornecendo maior embasamento para a conduta clínica, que assim terá o respaldo biológico necessário.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, em relação à morfologia, composição e fases químicas de diferentes regiões do esmalte e da dentina de dentes decíduos e permanentes, e considerando as limitações de um estudo *in vitro*, pôde-se concluir que:

Em relação ao esmalte:

- Observou-se semelhança no diâmetro da cabeça dos prismas de esmalte entre dentes decíduos e dentes permanentes e entre as regiões (JAD e superfície).
- Os dentes decíduos apresentaram maior número de prismas de esmalte em relação aos dentes permanentes.
- A porcentagem de fósforo e cálcio foi maior em dentes permanentes.
- Os dentes decíduos apresentaram algumas fases químicas diferentes em comparação com os dentes permanentes.

Em relação à dentina:

- Os diâmetros dos túbulos dentinários aumentaram gradativamente da JAD em direção a polpa nos dois substratos, contudo na JAD o dente permanente apresentou maior diâmetro e na região central o menor diâmetro.

- Os dentes permanentes apresentaram maior espessura de dentina peritubular em comparação com o dente decíduo, sendo que na região pulpar esta estrutura não foi observada.
- A porcentagem de fósforo e cálcio foi maior em dentes permanentes.
- Os dentes decíduos e dentes permanentes apresentaram fases químicas semelhantes.
- A distribuição de colágeno foi diferente em dentina de dentes decíduos e permanentes

REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Abramovich A. Dentición temporária. In: Histologia y embriologia dentária. 2ª Ed. Buenos Aires: Panamericana; 1999.
2. Agematsu H, Abe S, Shiozaki K, Usami A, Ogata S, Suzuki K, Soejima M, Ohnishi M, Nonami K, Ide Y. Relationship between large tubules and dentin caries in human deciduous tooth. Bull Tokyo Dent Coll 2005;46(1-2):7-15.
3. Agematsu H, Sawada T, Watanabe H, Yanagisawa T, Ide Y. Immuno-scanning electron microscope characterization of large tubules in human deciduous dentin. Anat Rec 1997;248(3):339-45.
4. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. J Oral Rehabil 1999;26(8):624-30.
5. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterization of the properties of primary tooth dentine. J Dent 2003;31:261-267.
6. Araújo FB, Moraes FF, Fossati ACM. A estrutura da dentina do dente decíduo e sua importância clínica. Rev Bras Odont 1995;52(4):37-43.
7. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxhan BJ. Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal. 3ª ed. Artmed editora. 2004.
8. Bordin-Aykroyd S, Sefton J, Davies EH. In vitro bond strengths of three current dentin adhesives to primary and permanent teeth. Dent Mater 1992;8(2):74-8.
9. Bozalis WG, Marshal GW, Cooley RO (1979). Mechanical pretreatments and etching of primary tooth enamel. J Dent Child 46:43-49
10. Brajdić D, Krznarić OM, Azinović Z, Macan D, Baranović M. Biological bases of dentin hybridization. Coll Antropol 2008;32(3):901-6.
11. Brudevold F, Savory A, Gardner De, Spinelli M, Speirs R. A study of acidulated fluoride solutions. I. In vitro effects on enamel. Arch Oral Biol 1963;(8):167-77.
12. Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. A comparison of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. Dent Mater 2002;18:239-45.

13. Carrassi A, Santarelli G, Strohmenger L, Garattini G. Morphology of the enamel and distribution of aprismatic layers in the deciduous teeth. *Dent Cadmos* 1986;54(2):51-4, 57-9.
14. Costa LR, Watanabe IS, Kronka MC, Silva MC. Structure and microstructure of coronary dentin in non-erupted human deciduous incisor teeth. *Braz Dent J* 2002a;13(3):170-4.
15. Costa LR, Watanabe IS, Kronka MC. Coronal dentinal tubules of non-erupted deciduous incisors. *Pesqui Odontol Bras* 2002b;16(1):12-7.
16. Costa LRRS, Watanabe I, Fava M. A SEM study of prismless enamel in non-erupted human deciduous teeth. *Braz J Morphol Sci* 1996;13(2):219-223.
17. Courson F, Bouter D, Ruse ND, Degrange M. Bond strengths of nine current dentine adhesive systems to primary and permanent teeth. *J Oral Rehabil* 2005;32:296-303.
18. Couve E, Onetto JE. Dynamic aspects of dentinogenesis in human deciduous teeth. *Rev Chil Odontostomatol* 1987;1(2):92-8.
19. Crabb HS, Darling AI, Carlstrom D, Glas JE, Angmar B. Studies on the ultrastructure of dental enamel. V. The state of water in human enamel. *J Ultrastruct Res* 1963;8:24-9.
20. Derise NL, Ritchey SJ, Furr AK. Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries. I-Macrominerals and comparison of methods of analyses. *J Dent Res* 1974;53(4):847-52.
21. Eisenmann DR. Estrutura do Esmalte. In: Ten Cate, A. R. *Histologia Bucal-Desenvolvimento, Estrutura e Função*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap. 11, p. 2005-221.
22. Fava M, Myaki SI, Ramos CJ, Watanabe I. Scanning electron microscopy observations of the prismless layer in fissures of erupted primary molars. *Pós Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos* 1999;2(2):1-7.
23. Fava M, Watanabe I, Moraes FF, Costa LRRS. Prismless enamel in human non erupted deciduous molar teeth: a scanning electron microscopic study. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1997;11(4):239-243.
24. Fava M, Watanabe I, Moraes FF. Fine structure and histometry of the enamel prismless layer of unerupted third molar teeth. *Rev Chil Anat* 1993;11:19-24.
25. Fejerskov O, Josephsen K, Nyvad B. Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel. *Caries Res* 1984;18(4):302-14.

26. Fosse G. The number of prism bases on the inner and outer surface of the enamel mantle of human teeth. *J Dent Res* 1964;43:57-63.
27. Fosse G. A quantitative analysis of the numerical density and the distributional pattern of prisms and ameloblasts in dental enamel and tooth germs. III. The calculation of prism diameters and numbers of prisms per unit area in dental enamel. *Acta Odontol Scand* 1968;26(4):315-36.
28. Fosse G, Saele PK, Eide R. Numerical density and distributional pattern of dentin tubules. *Acta Odontol Scand* 1992;50(4):201-10.
29. Freeman JJ, Wopenka B, Silva MJ, Pateris JD. Raman Spectroscopic detection of changes in bioapatite in mouse femora as a function of age and in vitro fluoride treatment. *Calcif Tissue Int* 2001;68:156-162.
30. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976;21(6):355-62.
31. Garcia-godoy F, Gwinnett AJ (1991). Effect of etching times and mechanical pretreatment on the enamel of primary teeth: a SEM study. *Am J Dent* 4:115-119.
32. Gedalla I, Hermel I, Sciaky I, Beinert E. Mineral composition of sound dentin of noncarious and carious teeth. *J Dent Res* 1970;49(2):456.
33. Giannini M, Carvalho RM, Martins LR, Dias CT, Pashley DH. The influence of tubule density and area of solid dentin on bond strength of two adhesive systems to dentin. *J Adhes Dent* 2001;3(4):315-24.
34. Gwinnett AJ. Histology of normal enamel. IV. Microradiographic study. *J Dent Res* 1966;45(3):870-3.
35. Gwinnett AJ. The ultrastructure of the "prismless" enamel of permanent human teeth. *Arch Oral Biol* 1967;12(3):381-8.
36. Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent* 1992;5:10-7.
37. Hirayama A, Yamada M, Miake K. Analytical electron microscopic studies on the dentinal tubules of human deciduous teeth. *J Dent Res* 1985;64:743.
38. Hirayama A, Yamada M, Miake K. An electron microscopy study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho* 1986;86(6):1021-31.
39. Hirayama A. Experimental analytical electron microscopic studies on the quantitative analysis of elemental concentrations in biological thin specimens and its application to dental science. *Shikwa Gakuho* 1990;90(8):1019-36.

40. Hosoya Y (1991).The effect of acid etching times on ground primary enamel. *J Clin Ped Dent* 15:188-194.
41. Johansson AK, Sorvari R, Birkhed D, Meurman JH. Dental erosion in deciduous teeth – an in vivo and in vitro study. *J Dent* 2001;29(5):333-40.
42. Kerebel B, Daculsi G, Kerebel LM. Ultrastructural studies of enamel crystallites. *J Dent Res.* 1979;58(Spec Issue B):844-51.
43. Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall GW, Weihs TP. Hardness and young modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Arch Oral Biol* 1996;41(1):9-13.
44. Kodaka T, Nakajima F, Higashi S. Structure of the so-called prismless' enamel in human deciduous teeth. *Caries Res.* 1989;23(5):290-6.
45. 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;16(1):29-35.
46. Kuhar M, Cevc P, Schara M, Funduk N. Enhanced permeability of acid etched or ground dental enamel. *J Prosthet Dent* 1997;77(6):578-82.
47. Lakomaa EL, Rytömaa I. Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res* 1977;85(2):89-95.
48. Liu SC, Marshall SJ, Tomar SL, Marshall GW. Microcanals of dentin associated with maxillary primary anterior teeth. *Pediatr Dent* 2000;22(4):318-20.
49. Low IM, Duraman N, Davies IJ. *Key Eng Mater* 2006;23:309-311.
50. Low IM, Duraman N, Mahmood U. Mapping the structure, composition and mechanical properties of human teeth. *Mater Sci Eng C* 2007;doi:10.1016/j.msec.2006.12.013.
51. Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ. Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy. *Arch Oral Biol* 1965;10(5):775-83.
52. Mjör IA. Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Braz Dent J* 2009;20(1):3-16.
53. Mortimer KV. The relationship of deciduous enamel structure of dental disease. *Caries Res* 1970;4:206-223.

54. Newman HN, Poole DF. Observations with scanning and transmission electron microscopy on the structure of human surface enamel. *Arch Oral Biol* 1974;19(12):1135-43.
55. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res* 1996;75(6):1396-403.
56. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int* 1993;24(9):618-31.
57. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater* 1995;11(2):117-25.
58. Pitts NB. Monitoring of caries progression in permanent and primary posterior approximal enamel by bitewing radiography. *Community Dent Oral Epidemiol* 1983;11(4):228-235.
59. Ruschel HC, Chevitaese O. Density and diameter of dentinal tubules of first and second primary human molars--comparative scanning electron microscopy study. *J Clin Pediatr Dent* 2002;26(3):297-304.
60. Saleh J, Willke LW, Bassani IA, Kraether L, Molz RF, Santos LA. Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivo. XVI Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Porto Alegre, 2004.
61. Sardella TN, Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent*. 2005;33:355-62.
62. 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(5):355-61.
63. Senawongse P, Harnirattisai C, Shimada Y, Tagami J. Effective bond strength of current adhesive systems on deciduous and permanent dentin. *Oper Dent* 2004;29:196-202.
64. Sonju-Clasen AB, Ruyter IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier Transform Infrared Spectrometry. *Adv Dent Res* 1997;11(4):523-527.
65. Stack MV. Organic constituents of enamel. *J Am Dent Assoc* 1954;48(3):297-306.
66. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent* 1999;21(7):439-44.

67. Tesh W, Eidelman N, Roschger P, Goldenberg F, Klaushofer K, Fratzl P. Graded microstructure and mechanical properties of human crown dentin. *Calcif Tissue Int* 2001;69:147-157.
68. Torres CP, Chinelatti MA, Gomes-Silva JM, Palma-Dib RG, Borsatto MC. Tensile bond strength to primary dentin after different etching times. *J Dent Child* 2007;74:113-7.
69. Thylstrup A, Fejerskov O. *Tratado de cariologia*. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica Ltda: 117-154, 1995.
70. Tronstad L. Ultrastructural observations on human coronal dentin. *Scand J Dent Res* 1973;81(2):101-11.
71. Wang LJ, Tang R, Bonstein T, Bush P, Nancollas GH. Enamel demineralization in primary and permanent teeth. *J Dent Res* 2006;85(4):359-63.
72. Wang RZ, Weiner S. Strain-structure relations in human teeth using Moiré fringes. *J Biomech* 1998;31:135-41.
73. Watanabe I. Scanning electron microscopy of the pulp chamber walls in human deciduous upper incisor. *Rev Odontol Univ Sao Paulo* 1988;2(1):51-5.
74. Whittaker DK, Kneale MJ. The dentine-predentine interface in human teeth. A scanning electron microscope study. *Br Dent J* 1979;146(2):43-6.
75. Wilson PR, Beynon AD. Mineralization differences between human deciduous and permanent enamel measured by quantitative microradiography. *Arch Oral Biol* 1989;34(2):85-8.
76. Zavgorodniy AV, Rohanizadeh R, Swain MV. Ultrastructure of dentine carious lesions. *Arch Oral Biol* 2008;53(2):124-32.

ANEXO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

OF.CEP/227/FORP

Ribeirão Preto, 14 de novembro de 2008.

Senhora Professora,

Ref.: Processo nº 2008.1.1168.58.3
CAAE nº 0067.0.138.000-08

A pedido da Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva, Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, informamos que o referido Comitê em sua 93ª Sessão, realizada em 13 de novembro de 2008, **aprovou** o Projeto de Pesquisa intitulado **"Diferenças micro-estruturais de esmalte e dentina de dentes decíduos e permanentes"**.

Na oportunidade, lembramos da necessidade de entregar na Secretaria do Comitê, com o formulário preenchido pelo pesquisador responsável, o **Relatório Final** no dia **30 de novembro de 2009**.

Atenciosamente,

Glaucete Della Rosa

Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto

Professora Associada do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da FORP/USP