

Artigo Original de Pesquisa
Original Research Article

Avaliação in vitro da microdureza de dentina bovina normal e esclerosada

In vitro evaluation of the microhardness of normal and sclerotic bovine dentin

Gisela Muassab CASTANHO*
Juliana Barbosa MARQUES**
Maitê André CAMARGO***
Antonio Alberto DE CARA****

Endereço para correspondência:

Address for correspondence:

Gisela Muassab Castanho
Rua Capanema, 254 – Brooklin Novo
São Paulo – SP – CEP 04558-050
E-mails: giselacastanho@hotmail.com / gicastanho@usp.br

* Aluna de Doutorado em Dentística – Faculdade de Odontologia da USP – São Paulo.

** Estagiária do Departamento de Dentística – Faculdade de Odontologia da USP – São Paulo.

*** Doutora em Dentística – Faculdade de Odontologia da USP – São Paulo.

**** Doutor. Professor assistente da disciplina de Dentística Restauradora II – Faculdade de Odontologia da USP – São Paulo.

Recebido em 31/10/08. Aceito em 26/11/08.

Received on October 31, 2008. Accepted on November 26, 2008.

Palavras-chave:

dentina bovina;
dentina esclerosada;
microdureza.

Resumo

Introdução: A literatura mostra características diferentes entre a dentina normal e a esclerosada. A dureza é uma das propriedades bastante utilizadas para comparar tanto os materiais restauradores como os tecidos biológicos. **Objetivo:** Comparar as características clínicas de dureza entre a dentina bovina normal e a esclerosada, por meio do teste de microdureza. **Material e métodos:** Foram utilizados 20 dentes bovinos divididos em dois grupos: GI (íntegros) e GII (com características de esclerose). Os dentes foram incluídos em resina acrílica com os bordos incisais expostos e paralelos ao plano oclusal. Os espécimes receberam acabamento e polimento e ficaram armazenados em água destilada em temperatura ambiente por 7 dias. Para o teste de microdureza foi utilizado o endentador Vickers com carga de 50 gf durante 45 s. Selecionaram-se três áreas para cada espécime, e

em cada área foram realizadas cinco endentações, totalizando 15 leituras por espécime. **Resultados:** Os dados foram registrados e submetidos à análise estatística pelo teste t (Student), com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram não haver diferenças estatisticamente significantes entre as médias de microdureza dos dois grupos estudados (GI: $36,82 \pm 9,45$; GII: $32,4 \pm 12,2$) ($p = 0,383$). **Conclusão:** A dentina bovina normal mostrou valores de microdureza Vickers semelhantes aos da dentina bovina esclerosada.

Abstract

Keywords:

bovine dentin; sclerotic dentin; microhardness.

Introduction: The literature shows different characteristics between normal and sclerotic dentin. Hardness is a property that has been very used to compare restorative materials and biological tissues. **Objective:** The aim of this study was to compare the hardness clinical characteristics between the normal and the sclerotic bovine dentin, through the microhardness test. **Material and methods:** 20 bovine teeth were divided in two groups: GI (normal) and GII (with characteristics of sclerosis). The teeth were mounted in acrylic resin cylinders with exposure of dentin along the incisal edges. The specimens received finishing and polishing following by storage in distilled water at ambient temperature for 7 days. Microhardness measurements were made using a Vickers indenter microhardness tester under a load of 50 gf for 45 s. In this study 3 areas per specimen were selected and each area received 5 indentations, resulting in 15 indentations per specimen. **Results:** The data were statistically processed using the Student's t-test. The level of significance was 5%. The results showed no significant differences between the mean values of the two groups (GI: 36.82 ± 9.45 ; GII: 32.4 ± 12.2) ($p = 0.383$). **Conclusion:** The normal bovine dentin presented similar microhardness Vickers values to the sclerotic bovine dentin.

Introdução

A dentina esclerosada é um substrato comumente encontrado na prática clínica, principalmente em pacientes idosos que têm desgaste dental. Trata-se de um tecido hipermineralizado, de aspecto vítreo e cor caramelo-acastanhado. Apresenta uma superfície fisiológica e/ou patologicamente alterada, resultante de um mecanismo de defesa natural como resposta a estímulos mecânicos ou da colonização da microbiota bucal. Do ponto de vista histológico possui peculiaridades como obliteração parcial ou total dos túbulos dentinários à custa de deposição de dentina peritubular e cristais minerais, o que a torna resistente ao condicionamento ácido [9, 10, 12, 19, 20].

A utilização da dentina esclerosada para avaliação da resistência adesiva tem sido frequente. Vários estudos, tanto in vitro como in vivo, têm demonstrado que a resistência adesiva à dentina esclerosada mostra valores inferiores quando comparada à dentina normal [2, 9, 12, 20]. Isso

se deve aos fatores citados anteriormente, os quais reduzem a formação dos tags de resina [18]. Em outros termos, a presença da dentina esclerosada parece dificultar o processo de hibridização, por ser um substrato mais mineralizado e por ter sua permeabilidade reduzida [19].

A etiologia multifatorial de lesões cervicais com esclerose tem sido revisada extensamente. A lesão em dentina cervical esclerótica não cariada foi descrita por Zsigmondy (1984) [22] como um defeito angular e por Miller (1997) [14] como um desgaste da estrutura dental, caracterizado por perda vagarosa e gradual de substâncias do dente, resultando em defeitos com formato de cunha ao longo da junção cimento/esmalte. No entanto a formação de dentina esclerosada em bordos incisais, que é o objeto deste estudo, tem sido pouco pesquisada.

A substituição da dentina humana pela dentina bovina é comumente aceita em estudos in vitro, entretanto há pouquíssimos relatos que utilizam dentina bovina esclerosada [2, 3]. Além disso, poucos

trabalhos têm sido realizados para avaliar diferenças entre dentina normal e dentina esclerosada incisal por intermédio de testes de microdureza. Os trabalhos que efetuaram esse tipo de teste quase sempre empregaram dentina radicular como substrato [1] ou compararam a dureza entre dentinas com lesão de cárie ativa e inativa [16].

A dureza é uma propriedade bastante utilizada para comparar tanto materiais restauradores como tecidos biológicos. É definida pela resistência do substrato à deformação plástica local e mensurada pela relação entre a força aplicada e a área de endentação [1, 17].

A dureza da dentina depende da concentração mineral presente. Por essa razão os valores de dureza medidos poderiam ser alterados de acordo com as diferentes regiões da estrutura dentinária [7]. Alguns estudos mostraram uma correlação inversa entre a microdureza e a densidade tubular; isso quer dizer que, à medida que avançamos em direção à polpa dental, a densidade tubular aumenta, enquanto a microdureza dentinária diminui [15].

Soprano (2007) [17] estudou os parâmetros para ensaios de microdureza em amálgama, resina composta, dentina e esmalte bovino e afirmou que para a dentina a carga ideal seria de pelo menos 50 gf em qualquer dos tempos estudados (5, 15, 30, 45 e 60 segundos), tanto no teste Vickers como no Knoop.

Pelo exposto, estudar a dureza comparando dentina bovina normal à esclerosada é importante para verificar propriedades relacionadas à maior ou menor concentração de minerais nesse substrato. Assim, podemos abrir novos horizontes para pesquisas futuras que queiram trabalhar com ele. O objetivo deste trabalho, portanto, foi comparar a dureza da dentina bovina normal e da esclerosada, por meio do teste de microdureza Vickers. O intuito foi validar a hipótese já existente de que a dentina esclerosada mais mineralizada tem uma dureza superficial superior à normal.

Material e métodos

Foram utilizados 20 incisivos bovinos extraídos de mandíbulas de animais abatidos em frigorífico com finalidade de comercialização de carne. Os incisivos foram armazenados em congelador a uma temperatura de 10°C. O interesse deste estudo encontra-se nos dentes que apresentam características de esclerose, próprios de animais com idade igual ou superior a 3 anos, com a intenção de compará-los aos dentes íntegros sem desgaste incisal típicos de animais com idade entre 1 e 2 anos [2, 3].

O tempo decorrido entre a obtenção das mandíbulas e a utilização dos dentes foi padronizado em 1 mês. Quando do início da pesquisa, as mandíbulas foram descongeladas em temperatura ambiente por 3 horas. A seguir, os dentes foram extraídos com auxílio de elevadores apicais apropriados para exodontia de dentes humanos e fórceps [2].

Os dentes foram limpos com curetas periodontais para remoção do ligamento periodontal e de debris aderidos e foram mantidos em água destilada até o dia seguinte, quando se iniciou a pesquisa.

Os incisivos bovinos foram divididos em dois grupos distintos:

- GI – dentes bovinos sem sinais de desgaste;
- GII – dentes bovinos com características de esclerose.

Os incisivos íntegros, sem sinais de desgaste (GI), receberam um corte com disco diamantado em baixa rotação sob refrigeração, a 5 mm do bordo incisal, numa inclinação de 45° em relação ao longo eixo do dente, mantendo a inclinação média do desgaste dos dentes esclerosados. A exposição do tecido dentinário com coloração amarelo-clara foi realizada de forma a obter túbulos na mesma direção daqueles encontrados na dentina esclerosada. Já os incisivos esclerosados (GII) ficaram intactos nessa fase, com o intuito de preservar suas características [2].

Dessa maneira obtiveram-se dez fragmentos para cada grupo. Os fragmentos foram fixados e embutidos em stubs plásticos com resina acrílica ativada quimicamente (RAAQ). Após a presa total da RAAQ, os cilindros de resina foram deslocados dos stubs e lavados em água corrente [1].

Cada espécime passou por um processo de polimento, para a realização dos testes de microdureza. Para o polimento empregaram-se a Politriz Ecomet 3 a uma rotação de 200 rpm e irrigação com água. Uma sequência decrescente de discos de lixa d'água Buehler (Lake Bluf, Illionois, EUA) foi usada nas granulações 320, 400, 600, 1.200 e 4.000, por 60 segundos. Em seguida, os espécimes receberam o polimento final com discos de feltro Buehler (Lake Bluf, Illionois, EUA) e pasta diamantada Metadi II – Buehler (Lake Bluf, Illionois, EUA) pelo mesmo tempo [1]. Esse processo teve como objetivo remover riscos superficiais provocados pela ação dos discos utilizados no momento do corte dos fragmentos. Assim, obteve-se uma superfície plana com menor número de irregularidades.

Todos os espécimes foram lavados em água corrente e colocados em aparelho de ultrassom por 20 min para a eliminação de eventuais resíduos superficiais. Após esse procedimento, ficaram armazenados em água destilada em temperatura ambiente por 7 dias.

Após uma semana, submeteram-se os espécimes aos testes de microdureza, que foram realizados com o microdurômetro HMV-2 Series (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com emprego de uma ponta de diamante do tipo Vickers e aplicação de carga de 50 gf por 45 segundos [17]. As marcas (endentações) foram visualizadas e medidas sob ampliação (50 vezes) e observadas em um monitor acoplado ao microdurômetro.

No momento da leitura, os espécimes foram fixados em uma morsa universal e em seguida, com o auxílio de um paralelômetro, posicionados em um plano paralelo à mesa do microdurômetro [17]. Realizaram-se cinco endentações, distantes entre si aproximadamente 100 μ m, em três locais distintos (bordas e centro do espécime), totalizando 15 endentações em cada espécime. As marcas obtidas após cada endentação foram focadas e visualizadas no monitor do microcomputador. Dessa forma, a medição das diagonais da marca impressa na superfície do espécime e, conseqüentemente, o valor de microdureza (VickersHardness Number – VHN) foram automaticamente calculados por meio do software Cams Win. Descartaram-se as endentações em que as diagonais apresentaram valores muito diferentes.

Finalizadas as medições, chegou-se a um total de 15 valores de microdureza para cada espécime (resultante das 15 endentações). Como não foram encontradas diferenças entre as médias do centro e das bordas, optou-se por efetuar a média aritmética simples dos 15 valores, estabelecendo assim um valor médio de microdureza para cada espécime. Os valores foram registrados e submetidos à análise estatística, com auxílio do programa estatístico Minitab (versão 14.12, Minitab, Inc., 2004).

Os dados numéricos obtidos foram inicialmente avaliados quanto a sua distribuição e homogeneidade. Como eles apresentaram distribuição normal e homogênea, foi aplicado o teste t de Student. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

As médias, os desvios-padrão e os valores máximos e mínimos de microdureza Vickers (VHN) para os dois grupos estudados encontram-se na tabela I.

Tabela I – Média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo obtidos para os grupos GI e GII quanto à microdureza Vickers (VHN)

Grupos	GI	GI I
Média	36,82	32,4
Desvio-padrão	9,45	12,2
Mínimo	26,3	14,6
Máximo	58,4	57,2

A análise estatística pelo teste t não demonstrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para as médias de microdureza ao nível de 5% ($p < 0,05$) (tabela II).

Tabela II – Intervalo de confiança (95%) e teste de hipótese na comparação dos valores médios de microdureza Vickers (VHN). Resultado do teste t (Student) de amostras independentes, comparação das médias de microdureza entre os dois grupos experimentais ($\alpha = 5\%$)

Dentina bovina (média \pm desvio-padrão)	IC (95%)	t (gl* = 16)	p-valor
Normal (36,82 \pm 9,45) vs. esclerosada (32,4 \pm 12,2)	- 5,977 a 14,737	0,90	0,383

* Correção de Welch

Discussão

Apesar de existirem poucos trabalhos que avaliem as diferenças entre dentina bovina normal e esclerosada, sabe-se que elas diferem entre si por uma série de características que foram descritas anteriormente [2, 3]. No entanto no presente estudo não foram encontrados valores diferentes estatisticamente expressivos entre os dois tipos de dentina. Tanto a dentina bovina esclerosada quanto a normal se mostraram semelhantes estatisticamente. Sendo assim, mesmo a dentina esclerosada humana e bovina, consideradas tecidos hipermineralizados, distinguem-se dos outros tipos de dentina por apresentarem o lúmen tubular ocluído [3, 10, 12, 20]. Essa oclusão dos túbulos dentinários não foi capaz de oferecer uma maior resistência à penetração do endentador e gerar valores mais altos de microdureza superficial em dentina esclerosada bovina. Isso ocorreu provavelmente por uma quantidade relativamente grande de matéria orgânica e/ou restos celulares presos aos túbulos, o que teria ocasionado uma diminuição na resistência à endentação.

Alguns autores relacionam valores de microdureza com outras propriedades biológicas da dentina. Segundo Pashley et al. (1985) [15], a relação inversa existente entre a microdureza dentinária e a densidade tubular é devida à relação direta entre a dureza e a quantidade de matriz calcificada por mm² de dentina. Portanto, quanto mais próximo à polpa, maior será a densidade tubular, mais largos serão os túbulos dentinários e menor será a quantidade de dentina calcificada. Todos esses fatores contribuiriam para uma baixa resistência durante a endentação e, assim, para menores valores de microdureza em dentina profunda. Isso foi testado por outros autores, como Meredith et al. (1996) [13] e Fuentes et al. (2003) [8], que também constataram diminuição da microdureza da dentina quando esta era testada de regiões superficiais para regiões profundas.

Entretanto, em estudos com a utilização da microscopia de força atômica, Kinney et al. (1996) [11] demonstraram que a diminuição da dureza com a profundidade dentinária, relatada por Pashley et al. (1985) [15], era causada por uma redução na rigidez da matriz dentinária intertubular. Contudo a diferença intrínseca na dureza de matrizes de dentina superficial ou profunda ainda permanece inexplicada. O que se sabe é que tais diferenças podem ser resultado da distribuição não-uniforme da orientação das fibras colágenas ou da distribuição mineral irregular no tecido dentinário [6].

Ainda com relação à densidade tubular, em pesquisas de microscopia de varredura e de luz a dentina bovina apresentou-se mais irregular ao longo do dente quando comparada à humana [4, 5], o que vem comprovar a maior diversidade biológica da dentina bovina em relação à humana [6] observada pelo desvio-padrão da amostra (tabela I). Tais diferenças podem advir da distribuição mineral não-uniforme da dentina [11], que resultou em um comportamento mecânico similar entre os dois tipos de dentina bovina avaliados.

Todavia não existem diferenças somente entre o tecido dentinário em si, mas também entre tecidos dentinários de espécies diversas, como é o caso da dentina humana e bovina. Apesar de haver relatos que aceitem comumente a substituição de dentina humana pela dentina bovina em alguns testes in vitro, ela deve ser feita com ressalvas, em função de algumas diferenças que deveriam ser levadas em conta quando estudadas [4, 5, 6]. Dutra-Corrêa (2005) [6] considerou que a permeabilidade e o poder de dissolução dos dentes bovinos são

maiores se comparados aos dos humanos. Isso pode estar associado ao fato de que o boi apresenta desgaste dental combinado com a ação ácida do suco gástrico por ser ruminante, de modo a ter maior permeabilidade e ser ainda mais suscetível à dissolução da dentina. Assim, justificar-se-ia a baixa resistência à penetração do endentador em dentina bovina esclerosada, fazendo com que os valores de microdureza superficial dela se igualassem aos da dentina normal.

Outra condição a ser analisada é justamente a relação entre a acidez do meio bucal e a diminuição da dureza superficial dos tecidos dentinários. De acordo com Wongkhantee et al. (2006) [21], o efeito de bebidas e alimentos ácidos na dureza de superfície da dentina revelou que, quando essa superfície é exposta a alimentos e bebidas muito ácidos por determinado tempo, pode ocasionar perda em sua dureza, comprovada pelo teste de microdureza Vickers. Dessa forma, é possível fazer uma analogia entre essa capacidade de redução de dureza nos componentes dentários por alimentos e bebidas ácidas e a acidez proveniente dos ácidos liberados pelo estômago como parte do processo de digestão. Ora, sabe-se que os bovinos são animais ruminantes; logo, após ingerirem rapidamente o alimento, entre os períodos de alimentação eles tornam a regurgitar o alimento para a boca, onde é novamente mastigado e deglutido. Assim, pode-se dizer que os valores de dureza da dentina nesse trabalho, tanto a normal como a esclerosada, podem não ter tido diferenças por causa da exposição diária à determinada quantidade de ácido, a qual acabaria retornando à cavidade bucal juntamente com o alimento. Portanto, a dentina esclerosada, que a princípio teria uma quantidade mineral mais elevada e deveria apresentar uma dureza superior à normal, acaba se igualando a esta.

Haja vista que a perspectiva de vida da população tem aumentado e a dentina esclerosada é uma característica comum em idosos, faz-se mister realizar outros estudos que compreendam esse substrato, bem como que utilizem substitutos como a dentina esclerosada bovina.

Conclusão

De acordo com a metodologia empregada, não foi possível validar a hipótese de que a dentina esclerosada teria uma dureza superficial superior à normal. Concluiu-se que a microdureza superficial da dentina bovina esclerosada e a da dentina normal foram semelhantes.

Referências

1. Bechtold P. Avaliação in vitro da microdureza dentinária radicular em dentes bovinos após aplicação de diferentes tratamentos com hipoclorito de sódio associado ou não ao cimento de fosfato de zinco [dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.
2. Camargo MA. Avaliação da influência do tratamento dentinário na adesão de um sistema etch and rinse à dentina esclerosada bovina, após análise morfológica comparativa à dentina esclerosada humana [tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.
3. Camargo MA, Marques MM, de Cara AA. Morphological analysis of human and bovine dentine by scanning electron microscope investigation. *Arch Oral Biol.* 2008 Feb;53(2):105-8.
4. Correa MD, Netto CA, Youssef MN, Carmo ARP, Kuchinski FB. Estudo morfológico comparativo entre dentina bovina e humana ao MEV. *RPG.* 2003;10(4):312-6.
5. Correa MD, Netto CA, Youssef MN, Carmo ARP, Kuchinski FB. Estudo comparativo ao microscópio de luz da morfologia das dentinas bovina e humana. *Rev ABO Nac.* 2005;13(3):179-83.
6. Dutra-Corrêa M. Avaliação das propriedades térmicas, químicas e mecânicas relacionando dente bovino e dente humano [dissertação de Mestrado]. São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista; 2005.
7. Featherstone JD, Ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res.* 1983;17(5):385-91.
8. Fuentes V, Todelano M, Osório R, Carvalho RM. Microhardness of superficial and deep sound human dentin. *J Biomed Mater Res A.* 2003 Sep 15;66(4):850-3.
9. Giachetti L, Ercolani E, Bambi C, Landi D. Sclerotic dentin: aetio-pathogenetic hypotheses. *Minerva Stomatol.* 2002;51(7-8):285-92.
10. Guilnnet AJ, Jendresen M. Micromorphological flatures of cervical erosion after acid conditioning and its relation with composite resin. *J Dent Res.* 1978;7:543-9.
11. Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall Jr GW, Weihs TP. Hardness and young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Arch Oral Biol.* 1996;41(1):9-13.
12. Kwong SM, Tay FR, Yip HK, Kei LH, Pashley DH. An infrastructural study of the application of dentine adhesives to acid conditioned sclerotic dentin. *J Dent.* 2000;7:515-28.
13. Meredith N, Sherriff M, Setchell DJ, Swanson SA. Measurement of microhardness and young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Arch Oral Biol.* 1996;41(6):539-45.
14. Miller WD. Restoring class V lesions Part 2: abfraction lesions. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1997 Jun-Jul;9(5):505-6.
15. Pashley DH, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol.* 1985;1(5):176-9.
16. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Swain M, Tyas MJ. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Cariosolv™ treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays – a pilot study. *Aust Dent J.* 2005;50(4):246-50.
17. Soprano V. Estudo de parâmetros para ensaios de microdureza em amálgama de prata, resina composta, dentina e esmalte bovinos [dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.
18. Tay FR, Kwong SM, Itthagarun A, King NM, Yip HK, Moulding KM et al. Bonding of a self-etching primer to non-carious cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. *J Adhes Dent.* 2000;2:9-28.
19. Tay FR, Pashley DH. Resin bonding to cervical sclerotic dentin: a review. *J Dent.* 2004;32:173-96.
20. Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent.* 1994;22:141-6.
21. Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn D. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *J Dent.* 2006 Mar;34(3):214-20.
22. Zsigmondy U. Über die keelförmigen defecte en den facial flachess der Zajnhalse. *Oster r Ungar Vjhrschr Zahnarzte.* 1984;1:439-42.