

Irma Cunha Matos¹
Thessia Bazhouni Bader Sab¹
Nathalia Chacur Juliboni¹
Roberta Fabrício Guerra¹
Mauro Sayão de Miranda²

Bovine teeth as possible substitute to human teeth in laboratory studies: current findings reviewed

| Utilização de dentes bovinos como possível substituto aos dentes humanos nos testes in vitro: revisão de literatura

Abstract | One of the currently challenges for dentistry research is the difficulty to obtain enough amounts of bigid human teeth. Moreover, other difficulties as standardization of substrates, reduction of infection risk and bioethics question involving humans have stimulated the development of scientific research to obtain an available substitute for human teeth. The proposal of this study was to make a literature review and to evaluate a possible substitution for the human substrate. The bovine enamel seems to be an adequate substitute to the human enamel, but the dentine must be used with caution, since random incidences and depths of the slices in relation to the dentin tubules can modify the results.

Keywords: Enamel. Dentin. Infiltration.

RESUMO | Um dos desafios atuais para a pesquisa odontológica é a dificuldade de se conseguir dentes humanos hígidos em quantidade suficiente. Além disso, outras dificuldades, como a necessidade de padronização dos substratos, redução do risco de infecção e a questão bioética, têm motivado o desenvolvimento de pesquisas científicas que visam a conseguir um substituto viável para os dentes humanos. A proposta deste estudo foi realizar uma revisão de literatura avaliando uma possível substituição do substrato humano. O esmalte bovino parece ser um substituto adequado ao esmalte humano, mas a dentina deve ser utilizada com cautela, visto que incidências e profundidades aleatórias do corte, em relação aos túbulos dentinários, podem alterar os resultados.

Palavras-chave | Esmalte dentário. Dentina. Infiltração.

¹Aluno do Curso de Mestrado em Odontologia/Dentística da Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²Professor doutor adjunto de Dentística; coordenador do Curso de Mestrado em Odontologia/Dentística da Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução |

Os dentes humanos hígidos recém-extraídos têm sido o principal substrato utilizado em pesquisas *in vitro*, porém, em virtude de mudanças no paradigma da Odontologia, tratamentos restauradores tradicionais vêm cedendo espaço a uma ideologia de prevenção e promoção de saúde. Como conseqüência dessas mudanças, está se vivenciando hoje uma dificuldade de se conseguir dentes humanos hígidos em quantidade suficiente para produzir pesquisas científicas. Além disso, há outras dificuldades, como a necessidade de padronização dos substratos, redução do risco de infecção e a questão bioética envolvendo humanos. Tais fatores têm estimulado o desenvolvimento de pesquisas científicas que tentam conseguir um substituto para os dentes humanos, principalmente em relação aos testes de adesão e microinfiltração.

Existem poucos trabalhos na literatura sobre esse assunto, com resultados muito conflitantes e ainda pouco conclusivos. Portanto o objetivo deste estudo foi fazer uma revisão da literatura, avaliando os trabalhos publicados que comparam os dentes bovinos como possíveis substitutos aos dentes humanos nos testes *in vitro*.

Revisão de literatura |

Análise microestrutural

Schilke et al.¹⁸, em um estudo de microscopia eletrônica de varredura (MEV), verificaram que o número e o diâmetro dos túbulos dentinários em incisivos centrais bovinos e em molares decíduos e terceiros molares permanentes humanos eram estatisticamente semelhantes. Esses resultados sugeriram que, quando preparos padronizados são realizados, a dentina coronária de incisivos bovinos seria um substituto adequado para a dentina humana em estudos de adesão¹⁸.

A micromorfologia das dentinas humana e bovina ao contrário da dentina humana, apresenta um maior diâmetro dos túbulos dentinários próximo ao limite amelodentinário e menor diâmetro junto à polpa. A distribuição da dentina intertubular bovina próxima à polpa não é uniforme ao longo do dente e apresenta estruturas tubulares².

Em trabalho semelhante, comparando a dentina de dentes humanos e bovinos por meio de MEV, Lamosa⁵ verificou que a dentina superficial e a profunda dos dentes humanos apresentaram, em relação à dos dentes bovinos, uma maior densidade tubular, túbulos dentinários de menor diâmetro e um mesmo percentual de dentina intertubular. Observou, também, que a espessura de dentina presente na região vestibular dos incisivos bovinos é muito pequena, podendo apresentar, em um mesmo corte, regiões de dentina profunda e superficial. Em relação à orientação dos túbulos

dentinários, verificou que apenas as regiões centrais dos discos de dentina bovina apresentavam os túbulos dentinários dispostos regularmente em corte transversal e, conforme se distanciavam dessa região, os túbulos apresentavam inclinações cada vez mais oblíquas, o que limita bastante a área de trabalho para testes de adesão.

Microinfiltração marginal

A capacidade de selamento marginal de uma restauração é de extrema importância, uma vez que a microinfiltração pode estar associada à cárie recorrente, sensibilidade pós-operatória e manchamento marginal, o que poderá resultar em uma menor longevidade das restaurações. Entretanto, existe um limitado número de pesquisas científicas comparando o substrato humano com o bovino nos testes de microinfiltração.

Em relação à microinfiltração, Reeves et al.¹² avaliaram o comportamento de três sistemas adesivos em substratos humano e bovino. Os autores verificaram que não houve diferença estatística entre os dois substratos avaliados e, portanto, concluíram que os dentes bovinos poderiam ser indicados para estudos laboratoriais de microinfiltração.

Comparando a capacidade de selamento de três sistemas adesivos em restaurações classe V com margens em esmalte e cimento em dentes humanos e bovinos, Paraizo et al.¹⁰ verificaram que os dentes bovinos não são adequados para esse tipo de estudo, pois apresentam um melhor resultado no controle da microinfiltração em relação aos dentes humanos.

Para avaliar a capacidade de selamento marginal de dois sistemas adesivos, um com primer autocondicionante (Clearfil Liner Bond 2V) e o outro com condicionamento ácido total (Excite) e comparar o desempenho em dentes humanos e bovinos, em frente aos testes de microinfiltração, Resende e Gonçalves¹⁴ constataram que os dentes humanos e bovinos se comportaram de maneira semelhante diante do Excite, porém, em relação ao sistema Clearfil, os dentes bovinos apresentaram infiltração significativamente menor do que os dentes humanos.

Avaliando o padrão de infiltração marginal em esmaltes humano, bovino e suíno, Abuabara et al.¹ realizaram cavidades cúbicas e as preencheram com compósito fotoativado e cimento de ionômero de vidro. As médias de infiltração marginal nos esmaltes bovino e suíno foram semelhantes, porém estatisticamente superiores às médias encontradas no esmalte humano. Os resultados permitiram concluir que os substratos bovino e suíno permitem uma maior infiltração marginal que o esmalte humano em estudos laboratoriais de microinfiltração.

Testes de adesão

Visando a encontrar um substituto para os dentes humanos nos testes de adesão, Nakamichi et al.⁸ compararam a resistência de união de dentes bovinos com dentes humanos, usando cinco cimentos dentais e duas resinas compostas. Os autores observaram que valores de resistência de união ao esmalte e a dentina superficial do dente bovino foram semelhantes aos valores obtidos com os dentes humanos, embora os valores médios tivessem sido sempre ligeiramente menores para os dentes bovinos. Além disso, verificaram que a adesão à dentina bovina diminuía consideravelmente com a profundidade da dentina. A resistência adesiva foi de 1,6 a 10,7 vezes maior na camada superficial, quando comparada com a dentina profunda, sugerindo que a menor densidade dos túbulos por unidade de área era a responsável pela baixa resistência de união nas camadas de dentina mais profunda.

Avaliando a resistência retentiva ao impacto de quatro sistemas adesivos à dentina humana e bovina, por meio de um teste de cisalhamento, Saunders (1988) observou que não houve diferença significativa entre os diferentes substratos em relação aos quatro sistemas testados. A análise em MEV, após o condicionamento ácido, mostrou que as superfícies dentinárias dos dentes humanos e bovinos apresentavam semelhanças em relação à densidade, diâmetro e orientação dos túbulos dentinários, sugerindo que o uso dos dentes bovinos, como substituto para os dentes humanos, em estudos laboratoriais, deveria ser considerado.

Em um estudo avaliando a resistência adesiva ao teste de cisalhamento e à penetração da resina nos túbulos dentinários de dois sistemas adesivos, em dentina de dentes humanos e bovinos, os autores concluíram que os dentes bovinos não são capazes de substituir os dentes humanos, pois apresentam resistência adesiva estatisticamente menor, apesar da maior penetração da resina nos túbulos dentinários¹⁵.

Fowler et al.³ examinaram três variáveis associadas aos testes de adesão: o modo do teste (cisalhamento e tração), o modelo do aparelho de tensão e o tipo de substrato (dente humano e bovino). Os resultados da resistência de união em esmalte de dentes humanos e bovinos foram comparáveis. Em dentina, os resultados no substrato bovino foram maiores do que no substrato humano. Os autores atribuíram esse resultado conflitante às variáveis existentes como: tipo, qualidade e profundidade da dentina humana e bovina, região do dente em que foi utilizada (dentes humanos: oclusal de molares e bovinos: vestibular de incisivos) e o número de espécimes usados no experimento. Concluíram que outros estudos deveriam ser desenvolvidos para que resultados definitivos pudessem ser obtidos.

Já a resistência de união dos dentes bovinos também foi comparada com os incisivos, caninos, pré-molares e molares humanos na região da junção amelodentinária. Verificaram que a média da resistência de união de todos os dentes

humanos era semelhante a dos dentes bovinos¹¹.

A resistência ao cisalhamento de dois sistemas adesivos em dentes humanos decíduos e dentes permanentes bovinos foi também avaliada e verificaram que a dentina dos dentes decíduos apresentou uma resistência adesiva maior do que a dentina dos dentes permanentes bovinos, para ambos os sistemas adesivos avaliados⁴.

Visando a estudar a possibilidade de a dentina coronária e a radicular de dentes bovinos serem substituídas da dentina de dentes humanos permanentes e decíduos, nos testes de resistência de união ao cisalhamento, Schilke et al.¹⁷ concluíram que os dentes bovinos não devem ser indicados como substitutos dos dentes decíduos, pois os resultados foram estatisticamente maiores. A dentina radicular bovina apresentou resultados estatisticamente maiores em relação a todos os outros substratos, não devendo ser indicada. Entretanto, a dentina coronária bovina não apresentou diferença estatística em relação à dentina coronária humana, podendo, nesse caso, ser usada como substituto ao dente humano nos testes de cisalhamento.

A influência de diferentes substratos dentinários (humano ou bovino) na resistência de união de três sistemas adesivos foi também avaliada e os pesquisadores verificaram não haver diferença estatística entre os principais fatores avaliados (substrato e sistema adesivo) ou entre suas interações. A média da resistência de união à tração alcançou entre 11,6 e 14,2 MPa. Os substratos dentinários mostraram-se similares, independentemente do adesivo analisado⁷.

No estudo de Lopes et al.⁶, foram comparados os valores de resistência de união ao cisalhamento sobre esmalte e dentina humanos com os valores obtidos em dentes bovinos, utilizando dois sistemas de união com princípios de atuação distintos: 1) *Scotchbond Multi-Use* (SBMU); e 2) *Clearfil Liner Bond 2V* (CLB2V). Em esmalte, não se verificou diferença estatística entre os dentes humanos e bovinos para os dois materiais avaliados. Entretanto, para o SBMU, a dentina humana apresentou menor resistência de união em relação ao dente bovino, sugerindo que o uso do dente bovino em substituição ao dente humano, em testes laboratoriais de resistência adesiva, deveria ser visto com cautela, já que os valores obtidos dependiam do sistema adesivo utilizado.

Para determinar a resistência de união promovida por um sistema adesivo ao esmalte e à dentina humana, bovina e suína, e comparar a micromorfologia desses substratos condicionados por ácido fosfórico, pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), Reis et al.¹³ não verificaram diferenças significativas na resistência de união à microtração entre os substratos avaliados, além de revelarem, pela MEV, uma morfologia dentinária semelhante, sugerindo que os dentes bovinos podem ser considerados como possíveis substitutos para os dentes humanos nos testes de adesão em esmalte e dentina.

Em uma avaliação para testar a hipótese de que o uso do EDTA poderia melhorar a durabilidade da resistência de união de sistemas adesivos, Osório et al.⁹ verificaram que os dentes humanos apresentaram uma resistência de união 43 a 61% maiores do que quando os mesmos procedimentos eram executados em incisivos bovinos.

A resistência de união também foi comparada entre esmalte e dentina de dentes decíduos humanos e bovinos, na tentativa de encontrar um substituto aceitável para os dentes humanos. Titley et al.²⁰, avaliando a resistência de união de dois compômeros, com ou sem condicionamento prévio com ácido fosfórico, verificaram que, para o esmalte, os substratos humanos e bovinos foram semelhantes. Para a dentina, quando não foi realizado o condicionamento prévio, os dois substratos mostraram-se equivalentes, porém, quando foi utilizado o ácido fosfórico, foi verificada uma resistência de união significativamente menor para os dentes humanos, sugerindo que os dentes bovinos podem ser considerados como uma alternativa para os testes de resistência de união nos substratos de esmalte e dentina humana, desde que a dentina não seja condicionada pelo ácido fosfórico.

Discussão |

Para interpretação dos dados obtidos nos testes realizados *in vitro*, é essencial que se conheçam as características microestruturais do substrato no qual se está trabalhando. Entretanto, as informações obtidas na literatura a respeito das características morfológicas dos substratos bovinos não são conclusivas. Embora aparentemente todos os dentes de mamíferos sejam bastante semelhantes em suas características anatômicas e histoquímicas¹⁹ e existam estudos demonstrando similaridade no número e diâmetro dos túbulos dentinários de dentes bovinos e humanos^{13,16,18}, Bonfim et al.² observaram haver diferenças na micromorfologia desses substratos. Da mesma maneira, Lamosa⁵ pôde observar que os dentes humanos apresentavam uma maior densidade tubular, túbulos dentinários de menor diâmetro em relação aos dentes bovinos, porém com um mesmo percentual de dentina intertubular.

Avaliando os testes laboratoriais de microinfiltração, observou-se que existe um limitado número de pesquisas científicas abordando a comparação dos substratos humano e bovino. Reeves et al.¹² não verificaram diferenças estatísticas entre esses dois substratos, indicando, assim, os dentes bovinos para estudos de microinfiltração.

Porém, esses resultados não corroboram o de outros autores que demonstraram haver um maior índice de microinfiltração marginal em dentes bovinos^{1,10}.

Outro fator a ser considerado nos testes de microinfiltração diz respeito ao tipo de material utilizado nos diferentes

substratos. Trabalhando com um sistema adesivo que utiliza o condicionamento ácido total, não foi constatada diferença entre os dentes humanos e bovinos, porém, quando foi utilizado um sistema adesivo autocondicionante, a microinfiltração foi menor nos dentes bovinos¹².

Além de diferenças no padrão de condicionamento ácido do esmalte bovino, que apresenta uma forma arqueada em relação à forma ovalada do esmalte humano⁸, diferenças na quantidade de carbonato no esmalte desses dois substratos podem levar a uma alteração na estrutura da hidroxiapatita do esmalte bovino e torná-lo menos resistente do que o esmalte humano ao condicionamento com uma solução ácida forte, fazendo com que esse substrato apresente um comportamento diferente do substrato humano nos testes de microinfiltração¹².

Em relação aos testes de resistência de união, diferentes resultados foram encontrados na literatura sobre a utilização do substrato bovino. Foi demonstrado que a dentina radicular bovina apresentava valores de resistência de união estatisticamente maiores em relação à dentina coronária humana de dentes decíduos e permanentes, contra-indicando a sua utilização nos testes de adesão *in vitro*¹⁷.

A utilização da dentina coronária superficial dos dentes bovinos mostrou-se viável para os testes de adesão^{7,8,13,16,17}. Entretanto, trabalhos^{3,6} mostraram uma resistência de união maior para a dentina bovina em relação à dentina humana, enquanto outras pesquisas demonstram resultados contraditórios, indicando uma menor resistência de união para o substrato bovino^{9,15}.

Os dentes bovinos também foram analisados quando à possibilidade de serem utilizados como substituto nos testes de adesão para os dentes humanos decíduos. Enquanto Hosoya et al.⁴ encontraram valores de resistência de união estatisticamente menores para os dentes bovinos, Schilke et al.¹⁷ observaram um comportamento contrário, em que os dentes bovinos mostraram uma maior resistência de união. Embora apresentando resultados contraditórios, ambos os trabalhos contra-indicaram a utilização do substrato bovino em substituição ao dente decíduo humano, em virtude das diferenças encontradas em relação à resistência de união desses dois substratos.

Como se pode perceber, a literatura, além de escassa, é muito contraditória e não há um consenso sobre a possibilidade de utilização dos dentes bovinos como substituto dos dentes humanos nos testes de adesão. As diferenças observadas nos resultados dos testes de adesão podem ser explicadas não apenas pelas diferenças microestruturais já relatadas^{2,5}, mas também devido à existência de variáveis como o tipo, qualidade e profundidade da dentina humana e bovina e região do dente em que os testes são normalmente utilizados, uma vez que, nos testes de adesão, normalmente é utilizada a superfície oclusal de molares humanos e a superfície vestibular dos incisivos bovinos, o que

dificulta a padronização das amostras³.

Lamosa⁵ ressaltou a necessidade de um controle rigoroso nos critérios para a definição da profundidade dos corpos-de-prova de dentes bovinos, pois facilmente a dentina profunda era atingida, modificando com isso os parâmetros de avaliação. Além disso, em função da anatomia dos incisivos bovinos, existia uma grande dificuldade de se obter a mesma orientação dos túbulos dentinários em uma grande área de trabalho. Apenas as regiões centrais dos discos de dentina bovina apresentavam os túbulos dentinários dispostos regularmente em corte transversal e, portanto, qualquer modificação nesses critérios usados nos testes de adesão poderia levar a alterações nos resultados encontrados.

Em relação à utilização do esmalte bovino nos testes de adesão, observou-se que, mesmo já tendo sido demonstradas diferenças no padrão de condicionamento ácido nos esmaltes humano e bovino⁸, os trabalhos analisados foram unânimes em considerar viável a possibilidade de utilização do substrato bovino nesses testes *in vitro*, uma vez que os resultados obtidos em relação à resistência de união, comparando os dois substratos (humano e bovino), mostraram-se estatisticamente semelhantes^{3,6,8,13,20}.

Vale salientar que o número de pesquisas nessa área é muito restrito e muitos outros trabalhos precisam ser realizados no sentido de comparar estrutural e histologicamente o esmalte e a dentina dos dentes humanos e bovinos, e avaliar também o comportamento destes em relação aos diferentes materiais usados na prática odontológica nos diversos testes de adesão. Por enquanto, a utilização do substrato bovino deve ser vista com cautela e somente após estudos conclusivos poderemos ter um posicionamento mais preciso em relação à indicação ou não dos dentes bovinos como possíveis substitutos dos dentes humanos nos testes *in vitro*.

Conclusão |

O esmalte bovino pode ser um substituto adequado para o esmalte humano em alguns trabalhos de testes de resistência de união, porém a utilização da dentina dos dentes bovinos, para os testes de adesão e microinfiltração em substituição à dentina dos dentes humanos decíduos e permanentes, deve ser vista com cautela, pois, quando utilizada em incidências e profundidades aleatórias, pode alterar os resultados nos testes *in vitro*, quando comparados com as pesquisas em dentes humanos ou mesmo com outras pesquisas em dentes bovinos.

Referências |

- 1 Abuabara A et al. Evaluation of microleakage in human, bovine and swine enamels. *Braz Oral Res* 2004; 18(4): 312-6.
- 2 Bonfim MDC et al. *Pesq Odont Bras* 2000; 14(sup): 32, S2000.
- 3 Fowler CS et al. Influence of selected variables on adhesion testing. *Dent Mater* 1992; 8: 265-9.
- 4 Hosoya Y. et al. Comparison of two adhesives to primary vs. permanent bovine dentin. *J Clin Ped Dent* 1997; 22(1): 69-76.
- 5 Lamosa AC. *Comparação da dentina de dentes humanos e de dentes bovinos através de microscopia eletrônica de varredura*. 2001. 93 f. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Faculdade de odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2001.
- 6 Lopes MB, Sinhoretí MAC, Sobrinho LC, Consati S. Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests. *Pesq Odontol Bras* 2003; 17(2): 171-5.
- 7 Muench A. et al. Influence of different dentinal substrates on the tensile bond strength of three adhesive systems. *J Adhes Dent* 2000; 2(3): 209-12.
- 8 Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T. Bovine teeth as possible substitute in the adhesion test. *J Dent Res* 1983; 62(10): 1076-81.
- 9 Osorio R. et al. EDTA treatment improves resin-dentin bonds resistance to degradation improves. *J Dent Res* 2005; 84(8): 736-40.
- 10 Paraizo M. et al. Microinfiltração em resina composta: substrato bovino versus humano. *Pesq. Odont. Bras* 2000; 14(sup): 39.
- 11 Pioch T, Staehle HJ. Experimental investigations of the shear strengths of teeth in the region of the dentino-enamel junction. *Quintessence Int* 1996; 27(10): 711-4.
- 12 Reeves GW, Fitchie JG, Hembre Jr JH, Puckett AD. Microleakage of new dentin bonding system using human and bovine teeth. *Oper Dent* 1995; 20(6): 230-5.
- 13 Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SRP. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent* 2004; 6(2): 117-21.
- 14 Resende AM.; Gonçalves, S. E. P. Evaluation of the marginal leakage in human and bovine teeth with two different adhesive systems. *Cienc Odontol Bras* 2002; 5(3): 38-45.
- 15 Retief DH. et al. Extracted human vs. bovine teeth in laboratory studies. *Am J Dent* 1990; 3: 253-8.
- 16 Saunders WP. The shear impact retentive strengths of four dentine bonding agents to human and bovine dentine. *J Dent* 1988; 16 (5): 233-8.

- 17 Schilke R. et al. Bovine dentin as a substitute for human dentin in shear bond strength measurements. *Am J Dent* 1999; 10(4): 184-8.
- 18 Schilke R, Lisson JA, Baub O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* 2000; 45: 355-61.
- 19 Suga S. et al. Electron microprobe analyses on the distributions of Cl, Mg and Na, in the enamels of various animals. *Jpn J Oral Biol* 1971; 13: 85-94.
- 20 Titley KC, An in vitro comparison of short and long term bond strength of polyacid modified composite resins to primary human and bovine enamel and dentine. *Eur Arch Paediatr Dent* 2006; 7(4): 246-52.

Correspondência para/ Reprint request to:

Irma Cunha Matos

Rua Guilhermina Guinle nº59 – apto. 402 –

Botafogo, 22.270-060 – Rio de Janeiro – RJ.

Tel.: (21) 2579-0872.

irmamatos@click21.com.br