



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE UM PARTICULADO
DE DENTINA AUTÓGENA HUMANA MINERALIZADA COM
RECURSO A MICROSCOPIA ELETRÓNICA – ESTUDO
EXPERIMENTAL *IN VITRO***

Trabalho submetido por
Pedro Gil Rumor Antunes Gameiro
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2018



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE UM PARTICULADO
DE DENTINA AUTÓGENA HUMANA MINERALIZADA COM
RECURSO A MICROSCOPIA ELETRÓNICA – ESTUDO
EXPERIMENTAL *IN VITRO***

Trabalho submetido por
Pedro Gil Rumor Antunes Gameiro
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Mestre Alexandre Miguel Pereira Oliveira Santos

e coorientado por
Prof. Doutor António Alves de Matos

setembro de 2018

Aos meus pais, irmão e namorada, porque

“A felicidade só é verdadeira quando partilhada.”

Christopher McCandless

Agradecimentos

Ao meu orientador, Mestre Alexandre Santos, por me ter cativado para a Periodontologia e por me ter ajudado de forma incansável na realização deste trabalho de investigação.

Ao meu coorientador, Prof. Doutor António Alves de Matos, por ter demonstrado máxima disponibilidade e interesse, auxiliando-me nas observações microscópicas.

Ao Prof. Doutor Pedro Mota Veiga, pela ajuda no tratamento estatístico dos dados desta investigação.

Aos meus pais, Humberto e Leonor, que sempre acreditaram em mim e me permitiram desenhar o percurso de vida que escolhi, sem qualquer obstáculo. Obrigado por tudo!

Ao meu irmão, Miguel, o meu verdadeiro amigo. Desejo-te uma estadia tão boa como a minha, nesta “mui nobre academia” Egas Moniz!

À minha namorada, Gisela, que está sempre disponível para me apoiar, incondicionalmente. Contigo, always!

Às minhas avós, Celeste e Maria, que estão constantemente a torcer por mim!

Aos meu amigos que muito me motivaram e acreditaram ao longo desta longa etapa.

RESUMO

Objetivo: O objetivo desta investigação prendeu-se com a análise da superfície da dentina de um dente triturado na totalidade e de uma raiz dentária triturada, utilizando o aparelho “Smart Dentin Grinder[®]” para os triturar, após sofrer um tratamento de tempo variável de uma solução alcoólica básica composta por 0,5M de NaOH e 30% de álcool (v/v) (cleanser) e de uma solução salina fosfatada tampão (PBS).

Materiais e Métodos: Foram triturados oito dentes com auxílio da máquina “Smart Dentin Grinder[®]” (A- um dente completo; B- uma raiz dentária), constituindo dois grupos de estudo, que foram subdivididos em quatro subgrupos, consoante o tempo de exposição ao “cleanser”. As amostras foram observadas ao microscópio eletrónico de varrimento (SEM), a ampliações de 750x. Mediu-se o diâmetro dos túbulos dentinários de cada subgrupo de estudo, num total de 800 túbulos dentinários, com recurso ao programa informático “ImageJ”. Os resultados foram tratados estatisticamente pelo programa SPSS para avaliar a existência de diferenças entre os diâmetros dos túbulos dentinários de um dente completo triturado e de uma raiz dentária triturada e para avaliar a existência de alterações dos diâmetros dos túbulos dentinários após vários tempos de ação da solução desinfetante (“cleanser”). Também se recorreu à função de espectroscopia de raio-X por dispersão em energia (EDS) para se caracterizar quimicamente a superfície do particulado de dentina.

Resultados: Não se verificaram diferenças entre os diâmetros dos túbulos dentinários de um dente completo triturado e de uma raiz dentária triturada, após ação da solução desinfetante (“cleanser”). Confirmou-se que existe um aumento do diâmetro dos túbulos dentinários após ação da solução desinfetante (“cleanser”).

Conclusões: Esta investigação permitiu caracterizar a superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada, tendo-se verificado que a solução desinfetante (“cleanser”) leva a um aumento do diâmetro dos túbulos dentinários. Também foi possível aferir qual o tamanho e disposição das partículas de esmalte presentes no particulado de dentina, quando trituramos um dente na sua totalidade. Estes dados permitem-nos perceber qual a influência do protocolo de preparação de um enxerto de dentina autógena humana mineralizada sobre a superfície do particulado. São, no entanto, necessários mais estudos “in vitro”, nomeadamente bacteriológicos, para melhor caracterizar o efeito do protocolo de preparação referido sobre o particulado.

Palavras-Chave: Enxerto de dente autógeno, Matriz de dentina autógena, Dentina autógena mineralizada, Smart Dentin Grinder, SEM, Regeneração óssea

ABSTRACT

Objectives: This investigation's aim was to analyze the dentin's surface of a complete grinded tooth and of a grinded tooth's root, using a Smart Dentin Grinder[®] to grind them, after a variable time of action of a basic alcoholic solution composed of 0,5M of NaOH and 30% of alcohol (v/v) (cleanser) and a saline phosphate tampon solution (PBS).

Materials and Methods: For this research, eight extracted teeth were grinded with a Smart Dentin Grinder[®] (A – complete tooth; B – tooth's root), and later divided into two study groups which were subdivided into four subgroups, according to the amount of time the particles were exposed to the cleanser solution. The samples were observed with a scanning electron microscope (SEM), with a 750x magnification. The diameter of the dentinal tubules of each subgroup of study was measured, in a total of 800 dentinal tubules, with ImageJ's software. The results were treated with SPSS software, using a t test to study two independent samples in order to evaluate the existence of differences between dentin tubules' diameter of a complete grinded tooth and a grinded tooth's root. To evaluate the existence of variations in dentin tubules' diameter after several times of action of a cleanser solution, we used a one factor ANOVA test, followed by a Bonferroni test of multiple comparisons. We also used energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) to chemically characterize the particulate surface.

Results: There were no differences between the dentin tubules' diameter of a complete grinded tooth and a grinded tooth's root, after the cleanser solution's action. We were able to confirm that the cleanser solution is able to increase dentinal tubules' diameter.

Conclusion: This research allowed to characterize the surface of a particulate of autogenous human mineralized dentin, which suffers an increase in dentinal tubule's diameter with the cleanser's solution action. We were also able to measure and figure out the disposition of enamel particles in the dentinal particulate's surface when we grind a complete tooth. This data allows us to understand the influence that this protocol of preparation had in an autogenous human mineralized dentin particulate's surface. However, it is necessary to conduct further "in vitro" studies, such as bacteriological, in order to better characterize the effect of this preparation protocol over the particulate.

Key-words: Autogenous tooth graft, Autogenous dentin matrix, Smart Dentin Grinder, Mineralized dentin, SEM, Autogenous , Bone regeneration

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO	11
1. EXTRAÇÃO DENTÁRIA	11
2. CICATRIZAÇÃO ÓSSEA PÓS-EXTRAÇÃO DENTÁRIA	12
2.1. <i>Fase Inflamatória</i>	<i>12</i>
2.2. <i>Fase Proliferativa.....</i>	<i>13</i>
2.3. <i>Fase de Modelação/Remodelação.....</i>	<i>13</i>
3. ENXERTOS ÓSSEOS	13
3.1 <i>Autoenxertos</i>	<i>14</i>
3.2. <i>Aloenxertos</i>	<i>14</i>
3.3. <i>Xenoenxertos</i>	<i>15</i>
3.4. <i>Material Aloplástico.....</i>	<i>16</i>
4. DENTINA.....	16
4.1. <i>Semelhanças entre a dentina e o osso alveolar.....</i>	<i>16</i>
4.2. <i>Utilização de dentina para enxertos.....</i>	<i>18</i>
4.3. <i>Métodos de utilização da dentina.....</i>	<i>20</i>
5. EVIDÊNCIA CIENTÍFICA	23
II. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	31
1. OBJETIVOS DO ESTUDO	31
2. HIPÓTESES DO ESTUDO	31
III. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
1. TIPO DE ESTUDO	33
2. LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO.....	33
3. AMOSTRA	33
4. MATERIAIS	33
5. GRUPOS DE ESTUDO.....	34
6. PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	34
IV. RESULTADOS	39
V. DISCUSSÃO	53
VI. CONCLUSÃO.....	57
VII. PERSPETIVAS FUTURAS.....	59

BIBLIOGRAFIA 61

Índice de figuras

Figura 1: Particulado de dentina humana autógena mineralizada, distribuída em caixas de petri de acordo com os grupos estipulados para esta investigação	35
Figura 2: Amostras no interior da máquina de evaporação a vácuo JEE-400, prontas para serem recobertas por partículas de paládio.....	37
Figura 3: Microscópio Eletrónico de Varrimento JSM-5400, onde foram observadas as partículas de dentina humana autógena mineralizada	37
Figura 4: Uma das partículas de dentina do grupo A1 , observada ao SEM (750x)	39
Figura 5: Uma das partículas de dentina do grupo A2 , observada ao SEM (750x)	40
Figura 6: Uma das partículas de dentina do grupo A3 , observada ao SEM (750x)	40
Figura 7: Uma das partículas de dentina do grupo A4 , observada ao SEM (750x)	41
Figura 8: Uma das partículas de dentina do grupo B1 , observada ao SEM (750x)	41
Figura 9: Uma das partículas de dentina do grupo B2 , observada ao SEM (750x)	42
Figura 10: Uma das partículas de dentina do grupo B3 , observada ao SEM (750x) ...	42
Figura 11: Uma das partículas de dentina do grupo B4 , observada ao SEM (750x) ...	43
Figura 12: Medição da escala da imagem com o programa informático "ImageJ"	43
Figura 13: Medição do diâmetro de abertura de um túbulo dentinário com o programa informático "ImageJ".....	44
Figura 14: Dente Completo Triturado observado ao SEM (3500x).....	48
Figura 15: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Esmalte 1”, presente na figura 14.....	48
Figura 16: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Esmalte 2”, presente na figura 14.....	49
Figura 17: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Dentina 1”, presente na figura 14	50
Figura 18: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Dentina 2”, presente na figura 14	51

Índice de tabelas

Tabela 1: Características ideais para material de enxerto (Adaptado de Tang et al., 2016)	15
Tabela 2: Fatores de crescimento presentes na matriz orgânica da dentina (Bose et al., 2012; Y.-K. Kim et al., 2013; Orsini et al., 2012).....	17
Tabela 3: Proteínas Não-Colagénicas (NCPs) presentes na matriz extracelular de dentina humana (Orsini et al., 2012)	19
Tabela 4: Sequência do protocolo experimental para a extração das NCPs da dentina, recorrendo a EDTA (Tabatabaei et al., 2016)	20
Tabela 5: Estudos clínicos que incidem na utilização da dentina como biomaterial para enxertos ósseos (Khanijou et al., 2018; Tabatabaei et al., 2016)	30
Tabela 6 : Grupos de estudo	34
Tabela 7 : Grupos de estudo	39
Tabela 8: Estatística descritiva do diâmetro dos túbulos dentinários segundo o grupo e o tempo de ação da solução desinfetante ("cleanser").....	45
Tabela 9: Estatística descritiva do diâmetro dos túbulos dentinários segundo o grupo e teste t para comparação de grupos	46
Tabela 10: Estatísticas descritivas do diâmetro dos túbulos dentinários do grupo A (dente completo triturado) segundo o tempo de ação da solução desinfetante ("cleanser"), e ANOVA para comparação dos tempos de ação referidos	46
Tabela 11: Média dos diâmetros dos túbulos dentinários do grupo A (dente completo triturado) e Teste de Games-Howell para comparações múltiplas dos tempos de ação da solução desinfetante ("cleanser")	46
Tabela 12: Estatísticas descritivas do diâmetro dos túbulos dentinários do grupo B (raiz dentária triturada) de acordo com o tempo de ação da solução desinfetante ("cleanser"), e ANOVA para comparação dos tempos de ação referidos	47
Tabela 13: Média dos diâmetros dos túbulos dentinários do grupo B (raiz dentária triturada) e Teste de Bonferroni para comparações múltiplas dos tempos de ação da solução desinfetante ("cleanser").....	47

Índice de abreviaturas

3D – Três dimensões

ABTB – Bloco de enxerto ósseo de dente autógeno

ADM – Adrenomedulina

ADDM – Matriz de dentina autógena desmineralizada

APDDM – Matriz de dentina autógena parcialmente desmineralizada

ATG – Enxerto de dente autógeno

BMP – Proteína morfogénica óssea

BSP – Sialoproteína óssea

DA – Enxerto alógeno de dentina

DDM – Matriz de dentina desmineralizada

DMP – Proteína da matriz dentinária

DMP 1 – Proteína da matriz dentinária 1

DMP 2 – Proteína da matriz dentinária 2

DMP 4 – Proteína da matriz dentinária 4

DSP – Sialoproteína dentinária

EDS – Espectroscopia de raio x por dispersão em energia

EDTA – Ácido Etilenodiamino tetracético

EGF – Fator de crescimento epidérmico

FGF-2 – Fator de crescimento de fibroblastos 2

Gla – Ácido glutâmico

HA – Hidroxiapatite

IGF-I – Fator de crescimento insulina-like I

IGF-II – Fator de crescimento insulina-like II

IgG – Imunoglobulina G

ISQ – Coeficiente de estabilidade implantar

MMP 2 – Gelatinase A

MMP 8 – Colagenase-2

MMP 9 – Gelatinase B

MMP 20 – Esmaltina

MTA – Agregado de trióxido mineral

NaOH – Hidróxido de sódio

NCP – Proteína não-colagénica

OPN – Osteopontina

PBS – Solução salina fosfatada tampão

PDGF – Fator de crescimento derivado das plaquetas

PDL – Ligamento periodontal

PIGF – Fator de crescimento derivado da placenta

PTFE - Politetrafluoretileno

PTH – Hormona paratiroideia

SDG – Smart Dentin Grinder®

SEM – Scanning Electron Microscope (Microscópio Eletrónico de Varrimento)

SGF – Fator de crescimento esquelético

TC – Tomografia Computorizada

TGF- β - Fator de crescimento transformante β

TGF- β 1 – Fator de crescimento transformante β 1

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

WTA – Enxerto alógeno de dente completo

I. Introdução

1. Extração Dentária

A extração dentária está indicada quando um dente não consegue ser restaurado ou mantido em condições consideradas aceitáveis para um estado de saúde a longo prazo, função e/ou estética (Avila-Ortiz, Elangovan, Kramer, Blanchette, & Dawson, 2014). Antigamente, era entendida unicamente como uma perda dentária, no entanto, atualmente é considerada como uma amputação que pode levar a alterações funcionais, psicológicas, posturais e locais (M. Araújo, Silva, Misawa, & Sukekava, 2015; Atwood, 1963).

A ausência do dente despoleta uma cascata biológica de acontecimentos que normalmente resulta em alterações anatómicas locais irreversíveis, tanto horizontal como verticalmente, ao nível do osso alveolar, definindo-se esta estrutura como o tecido ósseo que circunda e suporta os dentes erupcionados (M. G. Araújo & Lindhe, 2009; Schropp, Wenzel, Kostopoulos, & Karring, 2003; Van Der Weijden, Dell'Acqua, & Slot, 2009). O osso alveolar é dente-dependente, desenvolvendo-se ao longo do processo de erupção dentária e sofrendo um inevitável processo de remodelação após extração dentária (M. Araújo et al., 2015; Jambhekar, Kernen, & Bidra, 2015; Y. K. Kim et al., 2014; Pilipchuk et al., 2015; Tan, Wong, Wong, & Lang, 2012; Vignoletti et al., 2012).

A maioria das alterações dimensionais que ocorrem após a extração dentária dão-se nos primeiros três meses de cicatrização, continuando a remodelação óssea até um ano após a cirurgia (Brkovic et al., 2012; Morjaria, Wilson, & Palmer, 2014; Schropp et al., 2003).

A perda dentária apresenta um impacto direto na qualidade de vida, apresentando implicações ao nível mastigatório, da fala e social (Gerritsen, Allen, Witter, Bronkhorst, & Creugers, 2010).

Atualmente, o tratamento do edentulismo, tanto parcial como total, encontra-se muito focado na reabilitação à base de implantes dentários (Iocca, Farcomeni, Pardiñas Lopez, & Talib, 2017; Milinkovic & Cordaro, 2014). Desta forma, é fundamental a manutenção de um volume ósseo adequado para que o resultado final de uma reabilitação implanto-suportada seja estético a longo prazo, representando a gestão da cicatrização alveolar um desafio diário (Atieh et al., 2015; Grunder, Gracis, & Capelli, 2005; Hämmerle, Araújo, & Simion, 2012; Nicolas, Snag-Choon, Stuart, Richard, & Tarnow, 2007; Vignoletti et al., 2012). Torna-se assim de vital importância compreender-se quais

os fatores e mecanismos que influenciam o processo de cicatrização óssea pós-extração dentária.

2. Cicatrização óssea pós-extração dentária

A perda óssea pós-extração dentária depende de determinadas condições sistêmicas e locais, entre as quais a morfologia do alvéolo, número de dentes vizinhos extraídos, biótipo periodontal, “compliance” do doente e diferenças biológicas inter-individuais (M. Araújo et al., 2015; Ashman, 2000; Avila-Ortiz et al., 2014; Morjaria et al., 2014; Wang & Lang, 2012). Para além destes fatores, também o modo de extração do dente contribui como fator de risco para a ocorrência de reabsorção do osso alveolar. Apesar da falta de evidência científica, atualmente é amplamente aceite que o recurso a um método de extração “atraumática” resulta na diminuição dos níveis de reabsorção óssea (Muska et al., 2013), tendo sido desenvolvidas novas técnicas e instrumentos neste sentido, como é o caso dos periótomos e dos instrumentos de extração Benex® (Weiss, Stern, & Dym, 2011).

O processo de cicatrização óssea dá-se por três fases (que podem ser distintas ou sobrepor-se): fase inflamatória, proliferativa e de modelação/remodelação (M. Araújo et al., 2015).

2.1.Fase Inflamatória

A fase inflamatória inicia-se imediatamente após a extração dentária, subdividindo-se em duas partes: primeiramente, dá-se a formação do coágulo sanguíneo (composto por eritrócitos e plaquetas envolvidos por uma matriz fibrosa), permitindo a cessação da hemorragia; segue-se a migração de células inflamatórias para a zona de cicatrização durante dois a três dias que, ao se relacionarem com a rede de vasos sanguíneos e com fibroblastos imaturos, irão formar um tecido de granulação muito vascularizado. Este tecido irá ser substituído gradualmente por uma matriz de tecido de conjuntivo, rica em fibras de colagénio e leucócitos (M. Araújo et al., 2015; Wang & Lang, 2012). Nesta fase, regista-se um aumento do volume do tecido mole resultante da migração de células inflamatórias, selando-se assim a entrada do alvéolo em cicatrização (Tan et al., 2012).

2.2.Fase Proliferativa

A fase proliferativa caracteriza-se por um aumento de tecido fibroso, com uma deposição de uma matriz provisória que será atravessada por vários vasos sanguíneos e osteoblastos, formando-se projeções de osso imaturo que irão rodear os capilares. Quando este osso rodear por completo um vaso sanguíneo, forma-se um “osteon” primário, estrutura que integra a microestrutura do osso. O osso imaturo é identificado nos alvéolos em cicatrização ao fim da segunda semana pós-extração e permanece neste local por várias semanas, sendo um tipo de osso que não apresenta capacidade de suportar carga, necessitando de ser substituído por tipos de osso maduro (M. Araújo et al., 2015; Makihara et al., 2018).

2.3.Fase de Modelação/Remodelação

A fase de modelação/remodelação é caracterizada pela alteração da forma e/ou arquitetura óssea, registrando-se uma substituição do osso imaturo por osso maduro do tipo lamelar ou medular e também uma alteração dimensional da crista alveolar, por ocorrência de reabsorção óssea nas paredes do alvéolo. Inicia-se trinta dias após a extração dentária e pode prolongar-se durante vários meses ou anos (M. Araújo et al., 2015; Wang & Lang, 2012). Estas alterações irão levar à mudança do perfil externo do osso alveolar que rodeia o local da extração dentária (Tan et al., 2012).

3. Enxertos Ósseos

Várias técnicas têm sido aplicadas na regeneração dos alvéolos em cicatrização após extração dentária. Historicamente, a primeira tentativa de prevenção da reabsorção óssea pós-cirúrgica, consistia na retenção intra-óssea da raiz dentária. Mais tarde, percebeu-se que esta técnica não era eficaz, uma vez que a ocorrência de fraturas e lesões de cárie comprometia o propósito da retenção radicular. Apareceram então novas formas de colmatar a perda óssea, colocando no espaço vazio criado pela extração um biomaterial de “preenchimento”, de forma a permitir posteriormente a colocação de um implante (Avila-Ortiz et al., 2014).

Um enxerto ósseo é um material que, sozinho ou em conjunto com outros materiais, promove a cicatrização óssea através de osteocondução (característica através

da qual o enxerto funciona como uma matriz que suporta mecanicamente o crescimento de vasos sanguíneos e de novo tecido ósseo), osteoindução (capacidade do material de enxerto em induzir a formação de células produtoras de osso a partir da diferenciação de células estaminais mesenquimais pluripotenciais) ou osteogênese (capacidade de produzir novo tecido ósseo pelos osteoblastos através da diferenciação de células osteoprogenitoras presentes no osso recetor ou contidas no material de enxerto), dependendo das características do material utilizado (Oryan, Alidadi, Moshiri, & Maffulli, 2015).

A seleção de um material de enxerto ideal recai sobre vários fatores, tais como a viabilidade tecidual, tamanho do defeito, tamanho do enxerto, forma e volume, características biomecânicas, manuseamento do enxerto, custo, questões éticas ou características biológicas (Oryan et al., 2015; Tang et al., 2016). São características desejáveis a biocompatibilidade, a capacidade de reabsorção, a semelhança mecânica ao osso alveolar e o tamanho dos poros e porosidade (tabela 1).

Estes materiais podem classificar-se, de acordo com a sua origem, em: autólogos (do próprio indivíduo), alógenos (de indivíduos da mesma espécie), xen enxertos (de origem animal) ou aloplásticos (material sintético) (Darby, Chen, & Buser, 2009; Tang et al., 2016).

3.1 Autoenxertos

Os enxertos de osso autólogo (ou autoenxertos) são considerados como sendo o “gold standard” na reconstrução de defeitos ósseos. Apresentam características osteogénicas, osteocondutoras e osteoindutoras. No entanto, revelam algumas desvantagens, como o aumento da morbidade do indivíduo, dor e possível infeção do local doador, lesões iatrogénicas decorrentes do processo de recolha óssea e quantidade e disponibilidade limitada de osso (Oryan et al., 2015; Tang et al., 2016).

3.2. Aloenxertos

Os enxertos alógenos (ou aloenxertos) têm características osteoindutoras e osteocondutoras, não apresentando morbidade para o dador. Por outro lado, não demonstram capacidade osteogénica nem de vascularização, revelam alta probabilidade

de risco de rejeição e de transmissão de doenças, bem como um custo elevado (Oryan et al., 2015; Tang et al., 2016).

Biocompatibilidade	É a capacidade que o material apresenta de não desencadear respostas celulares anormais, não sendo demonstrada toxicidade. O material ideal deve ser osteocondutor, osteoindutor e osteogénico, promovendo a angiogénese.
Capacidade de reabsorção	Capacidade necessária para que seja criado um espaço para o crescimento de novo tecido ósseo, de forma a levar à substituição da matriz sintética.
Semelhança mecânica ao osso alveolar	Capacidade de transferência de forças e de suporte de stress mecânico semelhantes às do osso alveolar, tentando-se desta forma mimetizar a geometria e propriedades mecânicas do osso cortical e trabecular.
Tamanho dos poros e porosidade	O tamanho mínimo dos poros deve ser de 100µm, de forma a permitir a existência de difusão de nutrientes e oxigenação celular, fatores importantes para que seja garantida a sobrevivência e proliferação celular. O tamanho ótimo dos poros varia entre 200 a 350µm. É importante notar que quanto maior for a porosidade do material, menor a sua resistência mecânica.

Tabela 1: Características ideais para material de enxerto (Adaptado de Tang et al., 2016)

3.3.Xenoenxertos

Os xenoenxertos apresentam capacidade osteocondutora e osteoindutora e encontram-se amplamente disponíveis. Demonstram as mesmas desvantagens dos aloenxertos e ainda acarretam a possibilidade de transmissão de doenças associadas ao mundo animal (como o caso da encefalopatia espongiiforme bovina ou da doença de “Creutzfeldt-Jakob”) bem como uma maior possibilidade de rejeição do enxerto, sendo que esta pode dar-se de forma mais agressiva (Yeoungsug Kim, Rodriguez, & Nowzari, 2016; Oryan et al., 2015; Tang et al., 2016).

3.4. Material Aloplástico

Os enxertos aloplásticos exibem a possibilidade de incorporar fatores de crescimento e células estaminais que ajudam a melhorar a osteogenicidade e a incorporação do enxerto e podem ser modelados com recurso a tecnologia 3D para melhor se moldarem ao defeito ósseo onde irão ser utilizados. Por outro lado, a osteogenicidade é condicionada pela porosidade do material, a taxa de reabsorção é variável consoante os diferentes materiais, apresentam fraca capacidade de neovascularização, o tipo de resposta imunológica é desconhecida e revelam propriedades mecânicas limitadas (Tang et al., 2016).

4. Dentina

Por forma a corrigir as limitações dos tipos de enxerto descritos anteriormente, tornou-se necessário desenvolver um material de enxerto capaz de promover eficazmente a regeneração óssea, colmatando as desvantagens dos anteriores (Y. K. Kim et al., 2010). Como a dentina apresenta várias semelhanças ao nível da composição e estrutura com o osso alveolar, esta tem sido estudada com o objetivo de ser utilizada como biomaterial na regeneração óssea (Young-Kyun Kim, Jeong Keun Lee, Kyung-Wook Kim, 2013).

A dentina é um dos tecidos mineralizados constituintes do dente, coberta apenas por um tecido de proteção de elevado grau de mineralização na coroa, o esmalte, e por cimento na raiz, uma estrutura envolvida na ligação do dente ao alvéolo dentário (Goldberg, 2011).

4.1. Semelhanças entre a dentina e o osso alveolar

Apresentando uma composição semelhante à do tecido ósseo (Atiya & Abdulrazzak, 2014; Y.-K. Kim et al., 2013; A. J. Smith et al., 2012; Tjäderhane, Carrilho, Breschi, Tay, & Pashley, 2012), a dentina é composta por uma matriz mineral (70%), uma orgânica (20%) e água (10%), ao passo que o osso alveolar apresenta, respetivamente, os valores de 65%, 25% e 10% (Eun-Suk Kim, Lee, Kang, & Lee, 2015; Tjäderhane et al., 2012).

O principal componente inorgânico de ambos os tecidos é a hidroxiapatite (HA) e o principal componente orgânico é o colagénio tipo I (Ravindran, George, Tooth, & Genetics, 2015).

Na tabela 3 podem identificar-se as proteínas não-colagénicas (NCPs) integrantes da matriz extracelular dentinária. Destes constituintes, são comuns ao tecido ósseo os fatores de crescimento, responsáveis por assegurar a adesão, proliferação, quimiotaxia, diferenciação e crescimento celular (Tabela 2), a osteocalcina, a osteopontina (OPN) e a sialoproteína óssea (BSP) (Bose, Roy, & Bandyopadhyay, 2012; Y.-K. Kim et al., 2013; Orsini et al., 2012; P. C. Smith, Martínez, Cáceres, & Martínez, 2015; Tabatabaei, Tatari, Samadi, & Moharamzadeh, 2016).

As proteínas morfogénicas ósseas (BMPs) integram a família dos fatores de crescimento transformantes β (TGF- β), constituindo o seu maior sub-grupo. Estão envolvidas na diferenciação de células estaminais perivasculares mesenquimais em tecido ósseo e cartilágneo, morfogénese dentária e reparação periodontal (Bose et al., 2012; Y.-K. Kim et al., 2013; P. C. Smith et al., 2015).

Fatores de Crescimento	Funções
IGF-I	Proliferação celular pulpar
SGF/IGF-II	Induz formação de osteodentina
TGF-β1	Mineralização dentinária e regulação do processo de cicatrização do complexo pulpo-dentinário
PDGF	O mais abundante, apresenta efeito angiogénico e intervém no processo de diferenciação odontoblástica
VEGF	Induz proliferação celular endotelial
PIGF	Regulação da vascularização pulpar e potencia ação do VEGF
FGF-2	Potencial angiogénico
EGF	O menos abundante, apresenta potencial angiogénico
ADM	Aumenta na presença de cárie dentária

Tabela 2: Fatores de crescimento presentes na matriz orgânica da dentina (Bose et al., 2012; Y.-K. Kim et al., 2013; Orsini et al., 2012)

As proteínas da matriz dentinária (DMPs) também se encontram presentes na matriz da dentina e do osso, embora em quantidades diferentes nos dois tecidos. Este grupo de proteínas é constituído por proteínas da matriz dentinária 1 (DMP1), fosforina dentinária (DPP) ou proteínas da matriz dentinária 2 (DMP2), sialoproteína dentinária (DSP) e proteínas da matriz dentinária 4 (DMP4), e devido ao seu papel ao nível da

adesão, proliferação e diferenciação de células estaminais em preosteoblastos, têm-se revelado muito interessantes para o desenvolvimento da engenharia do tecido ósseo a partir de células estaminais (Ravindran et al., 2015).

A osteocalcina é uma proteína gama-carboxilada dependente da vitamina K que existe em maiores quantidades no osso do que na dentina. Esta apresenta na sua constituição três resíduos de ácido glutâmico (Gla), que se ligam à HA, controlando possivelmente a cristalização da mesma. Este controlo afetará o crescimento e maturação das fases minerais do fosfato de cálcio (Orsini et al., 2012).

A osteopontina (OPN) caracteriza-se como uma fosfoproteína rica em ácido siálico e apresenta capacidade de estabelecer uma ponte entre as células do tecido ósseo e a hidroxiapatite (Orsini et al., 2012).

A sialoproteína óssea (BSP) não apresenta uma função biológica conhecida, no entanto, alguns dados sugerem que funcione como uma proteína reguladora do crescimento de cristais (Orsini et al., 2012).

Também se verifica a presença de vitamina D e hormona paratiroideia (PTH) tanto na dentina como no osso, sendo estes importantes moduladores na aposição e homeostase destes dois tecidos (A. J. Smith et al., 2012).

4.2. Utilização de dentina para enxertos

A dentina enquadra-se na categoria de autoenxertos, quando é utilizada no indivíduo a quem foi extraído o dente, aloenxertos, caso a dentina seja proveniente de um outro indivíduo da mesma espécie, e xenoenxertos, tendo como exemplo de espécies de animais dadoras os primatas, bovinos, suínos, ovinos e equinos (Teruel, Alcolea, Hernández, & Ruiz, 2015).

Todas as semelhanças entre o osso alveolar e a dentina atraem atenções para o potencial que este último apresenta no campo da regeneração óssea. Deste modo, têm surgido várias formas de tratamento da dentina previamente à sua utilização como material de enxerto (Binderman, Hallel, Nardy, Yaffe, & Sapoznikov, 2014; Tabatabaei et al., 2016).

Proteoglicanos (PGs)	<p>Família de pequenos proteoglicanos ricos em leucina</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Decorina b. Biglicano c. Fibromodulina d. Lumican e. Osteoadarina <p>Proteoglicanos de alta agregação</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Versican
Glicoproteínas	<ul style="list-style-type: none"> a. Osteocalcina b. Fosfoproteínas secretoras cálcio-ligantes (SCPP) c. Osteonectina (SPARC) d. Osteopontina e. Proteína da Matriz Dentinária 1 (DMP1) f. Sialoproteína Óssea g. Sialofosfoproteína Dentinária h. Fosfoglicoproteína da Matriz Extracelular
Proteínas séricas	<ul style="list-style-type: none"> a. Albumina b. IgG c. Transferina d. Fertilina-A
Enzimas	<p>Metaloproteinases e catepsinas</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Colagenase-2 (MMP-8) b. Gelatinase A (MMP-2) c. Gelatinase B (MMP-9) d. Esmaltelina (MMP-20) e. Catepsina B
Fatores de Crescimento	<ul style="list-style-type: none"> a. Fator de Crescimento Insulina-Like I (IGF-I) b. Fator de Crescimento Esquelético / Fator de Crescimento Insulina-Like II (SGF/IGF-II) c. Fator de Crescimento Transformante β1 (TGF-β1) d. Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas (PDGF) e. Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) f. Fator de Crescimento da Placenta (PIGF) g. Fator de Crescimento de Fibroblasto-2 (FGF-2) h. Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) i. Adrenomedulina (ADM)

Tabela 3: Proteínas Não-Colagénicas (NCPs) presentes na matriz extracelular de dentina humana (Orsini et al., 2012)

4.3. Métodos de utilização da dentina

4.3.1. Preparação da dentina por extração das NCPs

Este método, introduzido por Smith et al. (1979), tem sofrido ligeiras modificações no protocolo experimental. Atualmente, recorre-se a ácidos, hidróxido de cálcio e diferentes tipos de agregado de trióxido mineral (MTA) para a extração das proteínas dentinárias. Contudo, verificou-se que o material que demonstrou maior eficácia de extração destas mesmas proteínas foi o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). O organograma seguinte ilustra o método de extração das NCPs, com recurso ao EDTA (Tabela 4) (Tabatabaei et al., 2016).

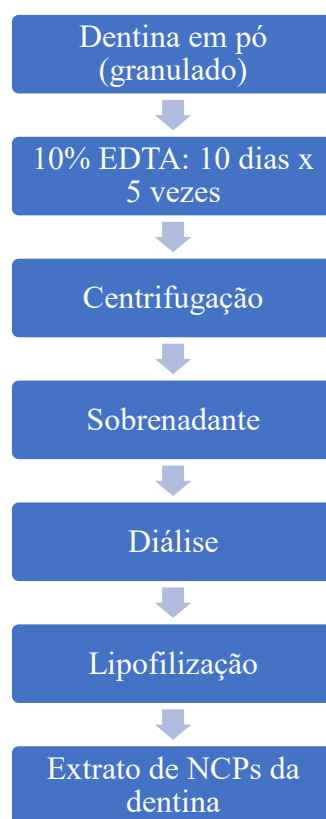


Tabela 4: Sequência do protocolo experimental para a extração das NCPs da dentina, recorrendo a EDTA (Tabatabaei et al., 2016)

4.3.2. Preparação da dentina por desmineralização

Reddi et al.(1970) depreveu um dos métodos mais antigos de desmineralização dentinária, método este que é ainda utilizado atualmente, apesar de terem sido efetuadas algumas modificações ao protocolo experimental (Huggins, Wiseman, Reddi, & Ph, 1970; Tabatabaei et al., 2016).

Os dentes extraídos são guardados numa solução alcoólica de 75% e mantidas num frigorífico ou congelador até serem enviados para o Korea Tooth Bank, em Seoul, para processamento. Aí serão eliminados os resíduos de tecido periodontal, sendo posteriormente os dentes triturados em partículas com diâmetro compreendido entre 300-800µm. O particulado obtido é então lavado, desengordurado, descalcificado e lipofilizado, sofrendo por fim um processo de esterilização com óxido de etileno. O material encontra-se assim pronto a ser utilizado clinicamente (Pang et al., 2017).

De acordo com Kim, E. (2015), foi sugerido que quando um dente não é sujeito ao processo de desmineralização, a indução de formação de novo tecido ósseo não é facilitada devido ao elevado conteúdo mineral, elevada cristalinidade e baixo grau de porosidade, que interferem com a migração, adesão e proliferação das células vasculares e mesenquimais (Kim, E., 2015).

O processo de desmineralização dentinária, por levar a um alargamento dos túbulos dentinários, aumenta a biodisponibilidade das NCPs, como a osteocalcina, osteonectina, BSP, fosforina e BMPs, que promovem o crescimento e diferenciação dos osteoblastos e, conseqüentemente, o crescimento de novo osso (Kim, E., 2015; Koga et al., 2016).

No entanto, esta técnica apresenta como desvantagem o facto de ser demorada, uma vez que o enxerto apenas se encontra pronto a ser utilizado ao fim de várias horas ou dias após a extração dentária ocorrer (Binderman et al., 2014).

4.3.3. Preparação da dentina por eliminação da matriz orgânica

Sendo reconhecida a importância das proteínas da matriz dentinária pela sua atuação no campo da migração, adesão, proliferação e diferenciação celular, o método da preparação da dentina por eliminação da matriz orgânica é evitado pelos investigadores, uma vez que são perdidas as propriedades supracitadas (Tabatabaei et al., 2016).

Moharamzadeh et al. demonstraram em 2008 que a dentina que sofre desnaturação apresenta excelente biocompatibilidade. No seu estudo, a dentina bovina foi ebulida em água durante duas horas, tendo de seguida sido colocada duas horas em isopropanol e seca a 100°C (Tabatabaei et al., 2016).

Eikayar et al. (2013) trataram a dentina bovina fervendo-a em água durante noventa minutos, calcinando-a em ambiente húmido a 735°C e passando-a por um processo de sinterização a 1150°C. Conseguiram desta forma produzir com sucesso

hidroxiapatite, verificando-se também a presença de grupos funcionais hidroxilo e fosfato, bem como de cálcio, potássio e fósforo (Tabatabaei et al., 2016).

4.3.4. Preparação da dentina inalterada

Para colmatar o facto de o processo de desmineralização dentinária ser muito moroso, foi desenvolvida uma nova técnica que versa sobre a utilização de dentina mineralizada, podendo utilizar-se para este procedimento dentes não endodoncizados, dentes extraídos por motivos ortodônticos, dentes perdidos por periodontite ou mesmo terceiros molares (Binderman et al., 2014).

Imediatamente após a extração, devem ser removidas dos dentes todas as restaurações, lesões de cárie, dentina descolorada, restos de ligamento periodontal (PDL) e tártaro, com recurso a uma broca de tungsténio (Binderman et al., 2014).

Após terminado este processo, o dente deve ser seco com recurso a uma seringa de ar, colocando-se de seguida no interior de uma câmara de trituração esterilizada do aparelho “Smart Dentin Grinder[®]” (SDG). Esta máquina permite a trituração do dente preparado em três segundos. Após esta trituração inicial, a câmara de trituração efetua movimentos vibratórios durante vinte segundos que irão permitir que as partículas inferiores a 1200 µm caiam através de uma peneira para um compartimento inferior. Desta forma, garante-se a manutenção do particulado com dimensões compreendidas entre 300-1200 µm, separando-se as partículas de tamanho inferior para uma segunda gaveta para desperdiçar, uma vez que as partículas inferiores a 300µm são consideradas como tendo um tamanho ineficiente para um enxerto ósseo. Tal explica-se pelo facto das células mesenquimais, como osteoblastos e células osteoprogenitoras, impedirem a reabsorção das partículas do enxerto e iniciarem o processo de formação óssea, fixando-se apenas na superfície de partículas com dimensões superiores (Koga et al., 2016). O processo de trituração e separação é então repetido para que ainda se encontram na câmara de trituração sejam então trituradas (Binderman et al., 2014).

As partículas de tamanho compreendido entre 300-1200 µm são então imersas numa solução básica alcoólica durante dez minutos, no interior de um recipiente de vidro estéril. A solução de 0,5M de hidróxido de sódio (NaOH) e 30% álcool (v/v) (“cleanser”) em que as partículas foram mergulhadas, permitirá a dissolução dos resíduos orgânicos, bactérias e toxinas (Binderman et al., 2014).

Após o banho com a solução desinfetante (“cleanser”), o particulado de dentina é lavado duas vezes com uma solução salina fosfatada tampão (PBS), que é isotônica, não é tóxica para a maioria das células e ajuda na manutenção de um pH constante, sendo decantada, deixando o particulado pronto para ser utilizado como material de enxerto em alvéolos dentários imediatamente após uma extração dentária, em defeitos ósseos do osso alveolar ou até em procedimentos de elevação do seio maxilar (Binderman et al., 2014).

Todo este processo demora cerca de quinze minutos, o que, em contraste com as técnicas descritas anteriormente, constitui por si só uma vantagem (Binderman et al., 2014).

O facto de se recorrer a partículas de dentina mineralizada também é entendido como um fator positivo, dado que é mantida uma estabilidade mecânica. Estas partículas irão também integrar o tecido ósseo recém-formado, criando um local de ancoragem para os implantes orais. Apesar dos enxertos de dentina desmineralizada permitirem a ação dos fatores de crescimento compreendidos na matriz dentinária, o que leva a uma osteogênese eficaz, verifica-se que a ancoragem de um implante colocado após um enxerto de dentina desmineralizada é inferior à que é conseguida após um enxerto de dentina mineralizada. Os dados clínicos obtidos indicam que a colocação de um implante e a sua carga poderão ser realizados, tanto no maxilar como na mandíbula, decorridos dois a três meses do enxerto de dentina (Binderman et al., 2014).

Assim sendo, Binderman et al. (2014) defende uma mudança do paradigma, propondo que os dentes extraídos por ausência de função ou por comprometimento periodontal não continuem a ser descartados, considerando até que a dentina autógena devia ser entendida como o “gold standard” para preservação alveolar, elevação do seio maxilar ou preenchimento de defeitos ósseos.

5. Evidência Científica

Para a realização da presente investigação, efetuou-se uma revisão da literatura centrada na utilização da dentina enquanto potencial biomaterial no âmbito da regeneração óssea, tendo a pesquisa de bibliografia sido efetuada nas plataformas agregadoras de bases de dados “Pubmed” e “B-on”. Foram utilizadas as palavras chave “dentin processing”, “autogenous dentin graft”, “bone regeneration”, “tooth extraction”, “tooth graft” e “dentin matrix graft”, tendo sido selecionados os artigos publicados entre 2010 e 2018, escritos em inglês.

Não se verificou a existência de nenhuma meta-análise que abordasse o tema. No entanto, constatou-se a existência de duas revisões sistemáticas que abordam os vários métodos descritos de processamento de dentina para a sua utilização como material de enxerto, no campo da regeneração óssea.

Na tabela seguinte, encontram-se os vários estudos clínicos em humanos descritos em ambas as revisões sistemáticas (Khanijou et al., 2018; Tabatabaei et al., 2016) (Tabela 5):

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatómico	Resultados
Murata, M.	2003	Relato de caso N=1	Particulado de dentina autógena desmineralizada	Elevação de seio maxilar (área dos dentes 24-26)	Após 5 meses de pós-operatório, 3 implantes puderam ser colocados na zona do enxerto. Biópsia revelou tecido ósseo maduro, misturado com remanescente do enxerto de particulado de dentina desmineralizada.
Gomes, M. et al.	2006	Estudo de caso N=27	Matriz de dentina autógena desmineralizada (ADDM)	Alvéolo dentário de terceiros molares inferiores	Radiografias demonstraram maior radiopacidade óssea homogénea no grupo ADDM + PTFE do que no grupo Controlo + PTFE, durante todos os momentos de observação. O enxerto de ADDM desapareceu gradualmente do alvéolo intervencionado, sugerindo a sua reabsorção à medida que se desenrola o processo de remodelação óssea.

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatómico	Resultados
Kim, Y. et al.	2010	Série de Casos N=6	Dente autógeno (AutoBT)	Maxila: 5 Mandíbula: 1	Exame histológico à zona em que se colocou o enxerto de AutoBT revelou reabsorção gradual deste material, que foi substituído por novo tecido ósseo. Novo osso formou-se por união direta ao AutoBT residual. 87% de formação de novo osso detetada.
Kim, Y. et al.	2011	Relato de Caso N=2	Enxerto ósseo de dente autógeno na forma de pó ou blocos	Preservação alveolar em mandíbula e maxila, com elevação de seio maxilar simultânea	Boa cicatrização. Após 3-3,5 meses da realização do enxerto, foi possível a colocação de implante.
Kim, Y. et al.	2011	Relato de Caso N=1	Pó de dente-osso autógeno	Mandíbula	Estabilidade inicial superior. Excelente cicatrização e regeneração periodontal.
Kim, Y. et al.	2011	Relato de Caso N=1	Pó de dente-osso autógeno	Maxila anterior atrófica	Enxerto ósseo em combinação com expansão da crista óssea demonstrou cicatrização favorável.
Lee, J. et al.	2012	Estudo Retrospectivo Cohort N=54	AutoBT	Maxila e mandíbula	A perda de osso marginal média peri-implantar após 1 ano da colocação do implante é de $0,33 \pm 0,63$ mm. O enxerto ósseo de dente autógeno foi confirmado como sendo um procedimento seguro, demonstrando excelente cicatrização óssea, no espaço de 2 anos.

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatómico	Resultados
Park, S. et al.	2012	Estudo de Caso N=133	AutoBT do tipo bloco, pó e combinação de ambos	Maxila e Mandíbula	A média da estabilidade inicial da colocação de implantes foi de 74 ISQ, com estabilidade secundária aumentada para 84 ISQ. A perda média de osso crestal na mandíbula após 6 meses de colocação de prótese em carga foi de 0,29 mm.
Kim et al.	2013	Estudo de Caso N=12	Blocos de dentina autógena	Defeitos peri-implantares na mandíbula	Verificou-se uma ótima cicatrização óssea em todos os pacientes. Não ocorreu osteointegração do implante em nenhum paciente.
Kabir, M. et al.	2014	Relato de Caso N=2	Matriz de dentina desmineralizada (DDM)	Maxila anterior e Mandíbula posterior (terceiros molares)	Radiografias após 1 ano de pós-operatório demonstra uma excelente cicatrização óssea. Radiografias pós-operatórias mostraram que o alvéolo resultante da extração dentária cicatrizou por completo com novo tecido ósseo.
Binderman, I. et al.	2014	Série de Casos N>100	Particulado de dentina autógena	Maxila e Mandíbula	Após 4 meses da colocação do particulado de dentina autógena em 48 alvéolos dentários, verificou-se formação de novo tecido ósseo. Ausência de sinais que apontem para perda óssea peri-implantar, após a colocação de implantes em zonas que sofreram enxerto. A cicatrização da elevação de seio maxilar realizou-se em 2 meses, tendo sido colocados 3 implantes após 3 meses, que obtiveram imediata acoragem.

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatômico	Resultados
Pohl, V. et al.	2016	Relato de Caso N=6	Dente particulado	Maxila	<p>Cicatrização pós-operatória normal com reabilitação protética.</p> <p>A profundidade de sondagem peri-implantar média após 5 anos foi de 1.86 mm (mesiolingual) e 2.07 mm (distovestibular).</p> <p>A média de reabsorção óssea peri-implantar durante o primeiro ano foi de 0.63 mm.</p> <p>Uma avaliação histológica demonstrou a ocorrência dos fenômenos de osteocondução e osteogênese, ocorrendo a encapsulação da dentina e esmalte do dente e reabsorção parcial do enxerto de dente particulado.</p> <p>Teste imuno-histoquímico revelou a formação de novos vasos sanguíneos nas zonas em que se efetuou o enxerto.</p>
Kim, Y. et al.	2016	Estudo Prospetivo Longitudinal N=5	Matriz de Dentina Desmineralizada	Maxila: 4 Mandíbula: 1	<p>Todos os casos demonstraram a ocorrência de formação óssea após o follow-up de 5 anos e 5.8 meses.</p> <p>Verificou-se uma perda de altura óssea vestibular (-0.4 a -3.3 mm) e de largura da crista alveolar (-0.4 a -4.2 mm).</p> <p>As alterações ósseas verificadas variaram entre -8.1 e -36.2%.</p>

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatómico	Resultados
Joshi, C. et al.	2016	Ensaio Clínico Randomizado N=45	Enxerto de dente autógeno (ATG)	Maxila: 18 Mandíbula: 12	<p>Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas na largura e altura da crista do osso alveolar nos três grupos de estudo.</p> <p>Os locais que receberam o ATG demonstraram resultados superiores, verificando-se perdas mínimas de altura e largura ósseas.</p> <p>A análise histológica demonstrou que os locais que receberam o ATG foram aqueles onde se verificou maior formação óssea.</p>
Kim, Y. et al.	2017	Série de Casos N=22	Bloco de matriz de dentina desmineralizada (ABTB)	Maxila: 12 Mandíbula: 10	<p>O ABTB foi incorporado e remodelado em osso cortico-esponjoso.</p> <p>A forma e volume ósseos foram mantidos, registando-se apenas uma mínima perda óssea.</p>
Joshi, C. et al.	2017	Ensaio Clínico Randomizado N=45	Enxerto de dente alógeno	Maxila: 26 Mandíbula: 19	<p>Os locais onde se utilizou WTA (enxerto alógeno de dente completo) e DA (enxerto alógeno de dentina) demonstraram melhores resultados ao nível de redução da largura e altura do osso alveolar crestal, quando comparados com os locais controlo e onde se aplicou FDBA (enxerto alógeno de osso liofilizado).</p> <p>A análise histológica revela uma maior formação óssea nos locais onde se colocou WTA e DA.</p>

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatómico	Resultados
Kim, Y. et al.	2017	Estudo de Caso N=18	Enxerto alogénico de matriz de dentina desmineralizada (DDM)	Maxila: 10 Mandíbula: 8	<p>Não se verificaram complicações. Verificou-se a encapsulação das partículas de DDM por um tecido fibroso altamente celularizado. Formação de novo tecido ósseo. As partículas de DDM raramente foram encontradas no tecido ósseo recém-formado.</p>
Pang, K. et al.	2017	Estudo Clínico Randomizado N=33	Enxerto de dente autógeno (AutoBT)	Maxila: 21 Mandíbula: 12	<p>Tanto o grupo que recebeu o xenoenxerto de Bio-Oss® como o grupo que recebeu o enxerto AutoBT apresentaram uma cicatrização favorável, estabilidade implantar semelhante e confirmação histológica de neoformação de osso.</p> <p>Histomorfometricamente, a neoformação óssea nos locais com enxerto AutoBT foi de $31.24 \pm 13.87\%$, enquanto que nos locais com enxerto BioOss® foi de $35.00 \pm 19.33\%$.</p> <p>O quociente de estabilidade implantar (ISQ) dos implantes colocados nos locais em que se recorreu ao enxerto de AutoBT foi de 72.80 ± 10.81, enquanto que o dos implantes colocados nos locais em que se recorreu ao enxerto de BioOss® foi de 70.0 ± 12.86.</p>

Autor	Data de publicação	Tipo de estudo e Amostra	Tipo de enxerto	Local anatómico	Resultados
Minamizato, T. et al.	2018	Estudo Piloto N=16	Matriz de dentina autógena parcialmente desmineralizada (APDDM)	Maxila: 9 Mandíbula: 7	Foi efetuada preservação alveolar com colocação de implante após 4-6 meses em 7 pacientes, não se tendo perdido qualquer implante com follow-up de 24 meses. Em 3 pacientes foi efetuada cirurgia de elevação do seio maxilar e as imagens da TC indicam aumento e remodelação óssea. Em 6 pacientes foi efetuado enxerto ósseo com APDDM, com colocação imediata de implante. Numa segunda cirurgia 3 meses após a colocação do implante, verificou-se que o material de enxerto APDDM foi substituído por um tecido ósseo-like, sem perdas de implantes com 24 meses de follow-up. Biópsia óssea efetuada a 4 pacientes demonstrou a existência de novo tecido ósseo ao redor do enxerto de APDDM.

Tabela 5: Estudos clínicos que incidem na utilização da dentina como biomaterial para enxertos ósseos (Khanijou et al., 2018; Tabatabaei et al., 2016)

De uma forma geral, todos os estudos clínicos detalhados na tabela 5 obtiveram conclusões semelhantes entre si, tendo sido demonstrada a biocompatibilidade da dentina como material de enxerto, apresentando cicatrizações pós-operatórias satisfatórias, e a capacidade de integração tecidual, osteocondução e osteoindução. Não foram descritos insucessos no que toca à taxa de sobrevivência dos implantes colocados após enxertos de dentina.

II. Objetivos e Hipóteses

1. Objetivos do estudo

Este trabalho de investigação laboratorial é um estudo experimental “in vitro” em que se pretende avaliar, com recurso a microscopia eletrónica, um particulado de dentina autógena humana mineralizada no que se refere:

- I. À análise da superfície (abertura dos túbulos dentinários) após condicionamento com uma solução alcoólica básica
- II. À análise da superfície após obtenção do particulado de dentina autógena mineralizada de várias partes do dente (dente completo e raiz)

2. Hipóteses do estudo

- **H1.0 (hipótese nula):** Não existem diferenças estatisticamente significativas entre a abertura dos túbulos dentinários obtidos a partir de um dente triturado na totalidade e a abertura dos túbulos dentinários obtidos a partir de uma raiz dentária triturada.
- **H1.1 (hipótese teste):** Existem diferenças estatisticamente significativas entre a abertura dos túbulos dentinários obtidos a partir de um dente triturado na totalidade e a abertura dos túbulos dentinários obtidos a partir de uma raiz dentária triturada.
- **H2.0 (hipótese nula):** Não existem diferenças estatisticamente significativas na abertura dos túbulos dentinários após imersão do particulado de dentina autógena mineralizada numa solução alcoólica básica, após observação com recurso a microscopia eletrónica.
- **H2.1 (hipótese teste):** Existem diferenças estatisticamente significativas na abertura dos túbulos dentinários após imersão do particulado de dentina autógena mineralizada numa solução alcoólica básica, após observação com recurso a microscopia eletrónica.

Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica – Estudo experimental in vitro.

III. Materiais e Métodos

1. Tipo de estudo

Estudo de investigação experimental “in vitro”.

2. Local de realização do estudo

Este trabalho de investigação experimental “in vitro” foi realizado no Laboratório de Microscopia Eletrónica e Histomorfologia (Cmicros) do Centro de Investigação Interdisciplinar da Egas Moniz (CiiEM).

3. Amostra

A amostra é constituída por 800 túbulos dentinários obtidos a partir de 8 dentes íntegros extraídos por motivos periodontais, ortodônticos, terceiros molares inclusos e dentes total ou parcialmente impactados (foram excluídos dentes endodonciados) na Clínica Dentária Egas Moniz, que foram posteriormente triturados com recurso à máquina “Smart Dentin Grinder®”.

4. Materiais

- Brocas esféricas de carbide de tungsténio
- Cureta Gracey
- “Smart Dentin Grinder®”(Kometabio, USA)
- Solução básica alcoólica composta por 0,5M de NaOH e 30% de álcool (v/v) (“cleanser”)
- Solução salina tampão fosfatada estéril (PBS)
- Dentes humanos
- Cápsulas de trituração esterilizadas
- Pipetas plásticas
- Godés esterilizados

- Máquina de evaporação a vácuo JEE-400
- Paládio
- Microscópio eletrónico de varrimento (SEM) – JSM-5400

5. Grupos de Estudo

Foram definidos dois grupos de estudo: grupo A (dente completo triturado) e grupo B (raiz dentária triturada). De seguida, cada grupo foi dividido em quatro subgrupos, constando 1 dente em cada um destes subgrupos, de acordo com o tempo de ação do “cleanser” com que foram tratados, conforme representa a tabela 6:

Grupo A (dente completo triturado)	Grupo B (raiz dentária triturada)
A1 - Sem tratamento	B1 – Sem tratamento
A2 – Tratado durante 3 minutos	B2 – Tratado durante 3 minutos
A3 – Tratado durante 7 minutos	B3 – Tratado durante 7 minutos
A4 – Tratado durante 12 minutos	B4 – Tratado durante 12 minutos

Tabela 6 : Grupos de estudo

6. Protocolo Experimental

Preparação da peça dentária

1. Remoção do tecido periodontal associado ao dente extraído com auxílio de cureta gracey e broca de tungsténio
2. Secagem do dente com seringa de ar

Trituração com o aparelho “Smart Dentin Grinder®”

3. Coloca-se o dente na câmara de trituração do aparelho “Smart Dentin Grinder®”, alinha-se a seta pequena do recipiente com a seta do centro da máquina
4. Roda-se a câmara da máquina no sentido contrário ao dos ponteiros do relógio

5. Pressiona-se o botão GRIND, pressionando-se o botão UP e DOWN para definir o tempo de trituração (neste caso, deverá ser de 3 segundos)
6. Pressiona-se o botão SORT e, com os botões UP e DOWN, define-se 20 segundos de tempo de separação
7. Pressiona-se o botão START para dar início à trituração
8. Abre-se o compartimento superior que contém o particulado obtido (300-1200 μ m)
9. Divide-se o particulado nos grupos de estudo estipulados (ver figura 1)

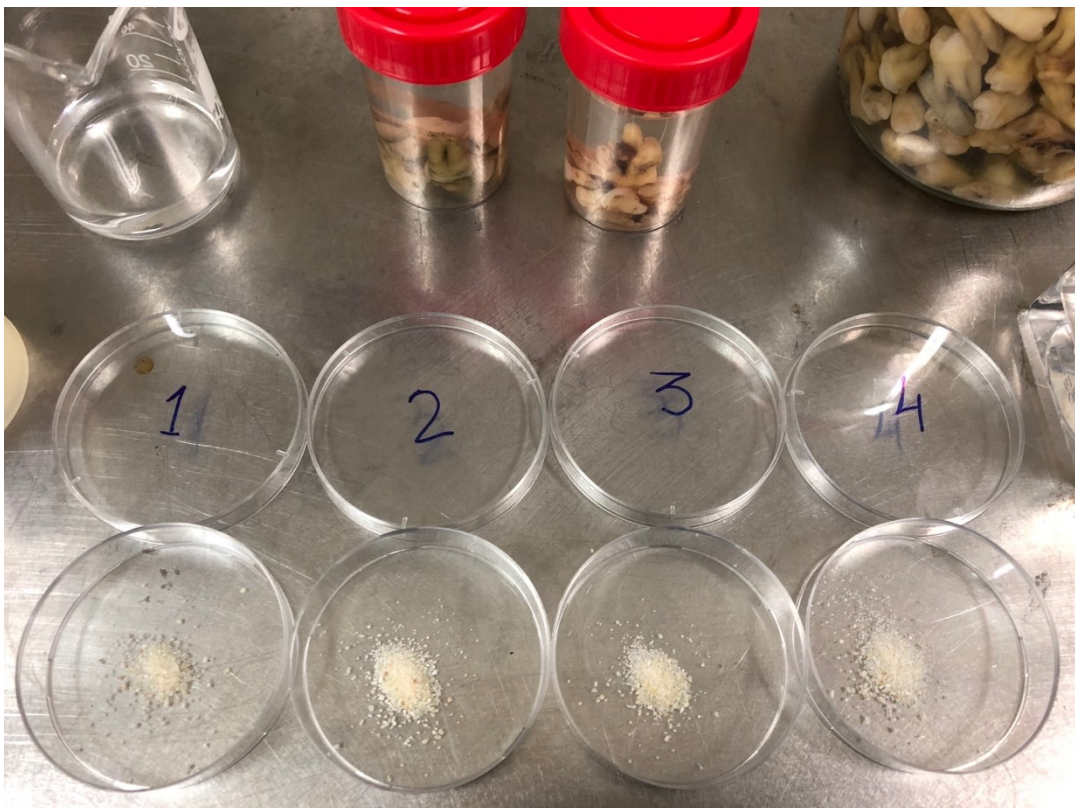


Figura 1: Particulado de dentina humana autógena mineralizada, distribuída em caixas de petri de acordo com os grupos estipulados para esta investigação

Tratamento do particulado com a solução desinfetante (“cleanser”) e solução tampão (PBS)

10. Coloca-se o particulado numa caixa de “petri” o e submerge-se o mesmo com o “cleanser” durante o tempo estipulado para cada grupo
11. Após a ação do “cleanser”, retira-se o mesmo da caixa de “petri” com auxílio de uma pipeta plástica esterilizada
12. Adiciona-se a solução PBS ao particulado e deixa-se atuar durante 3 minutos

13. Após a ação da solução PBS, retira-se a mesma da caixa de “petri” com auxílio de uma pipeta plástica esterilizada

Recobrimento da amostra com paládio

14. Colocam-se as amostras sobre um prato metálico, identificando as mesmas de acordo com o grupo e subgrupo a que pertencem
15. Colocam-se as amostras no interior da máquina de evaporação a vácuo JEE-400, onde são recobertas de seguida com partículas de paládio, de forma a permitir a observação das amostras com recurso ao SEM (Figura 2)

Observação ao SEM

16. Observam-se as amostras com magnificação de 750x, com uma distância de trabalho de 15mm e alta voltagem de 20 kV (Figura 3)
17. Utiliza-se a função de espectroscopia de raio x por dispersão em energia (EDS) para se determinar a composição química das partículas observadas

Determinação do diâmetro dos túbulos dentinários

18. Determina-se o diâmetro dos túbulos dentinários dos vários grupos de estudo, com recurso ao programa informático “ImageJ”

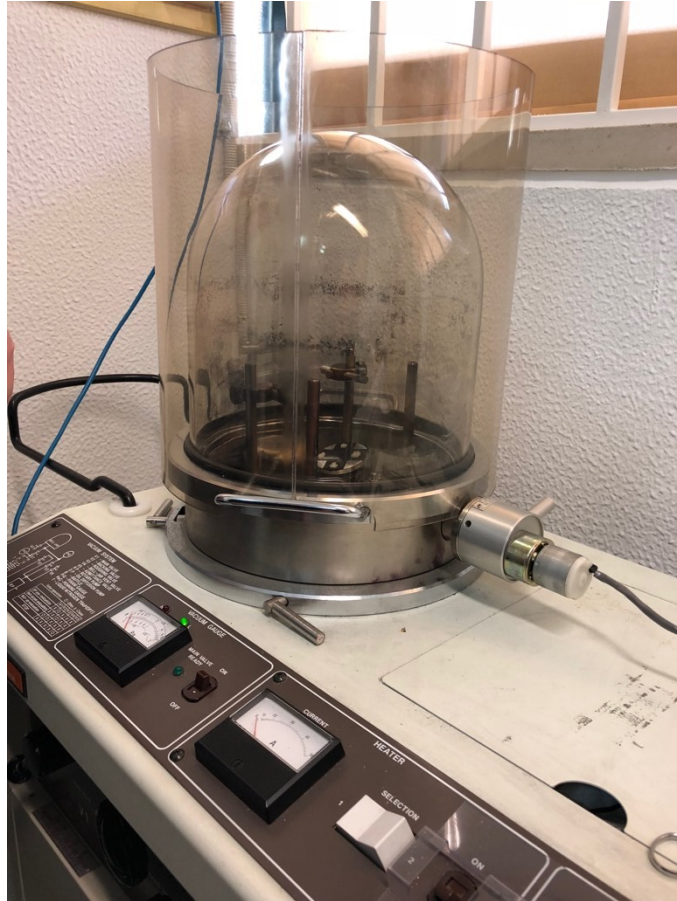


Figura 2: Amostras no interior da máquina de evaporação a vácuo JEE-400, prontas para serem recobertas por partículas de paládio



Figura 3: Microscópio Eletrónico de Varrimento JSM-5400, onde foram observadas as partículas de dentina humana autógena mineralizada

Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica – Estudo experimental in vitro.

IV. Resultados

1. Determinação dos diâmetros dos túbulos dentinários

Foram captadas imagens ao microscópio eletrônico de varrimento (SEM) dos dois grupos em estudo e seus subgrupos (ver tabela 6).

Grupo A (dente completo triturado)	Grupo B (raiz dentária triturada)
A1 - Sem tratamento	B1 – Sem tratamento
A2 – Tratado durante 3 minutos	B2 – Tratado durante 3 minutos
A3 – Tratado durante 7 minutos	B3 – Tratado durante 7 minutos
A4 – Tratado durante 12 minutos	B4 – Tratado durante 12 minutos

Tabela 7 : Grupos de estudo

Em cada subgrupo, foram recolhidas 10 imagens, sendo que cada uma corresponde a uma partícula de dentina diferente.

Na figura 4 podemos observar a superfície de uma partícula de dentina pertencente ao grupo A (dente completo triturado) que não sofreu ação da solução desinfetante (“cleanser”). Pode observar-se a presença de vários túbulos dentinários e, espalhados pela superfície dentinária, vários fragmentos de esmalte.

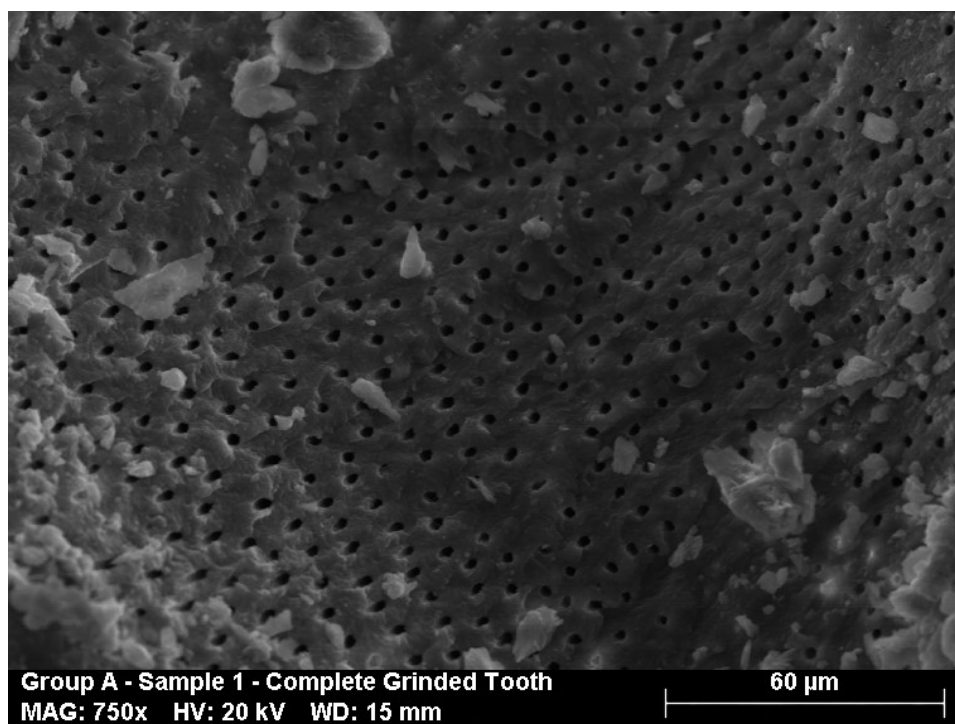


Figura 4: Uma das partículas de dentina do grupo A1, observada ao SEM (750x)

Nas figuras 5, 6 e 7, podemos observar a superfície de partículas de dentina pertencentes ao grupo A (dente completo triturado), após terem sofrido ação da solução desinfetante (“cleanser”), de acordo com o estipulado na tabela 6. Da mesma forma que o observado na figura 4, também se consegue verificar a existência dos vários túbulos dentinários e fragmentos de esmalte dispostos pela superfície da partícula de dentina. No entanto, quando comparados os diâmetros dos túbulos dentinários observados com os do grupo A1, verifica-se que estes apresentam um maior calibre.

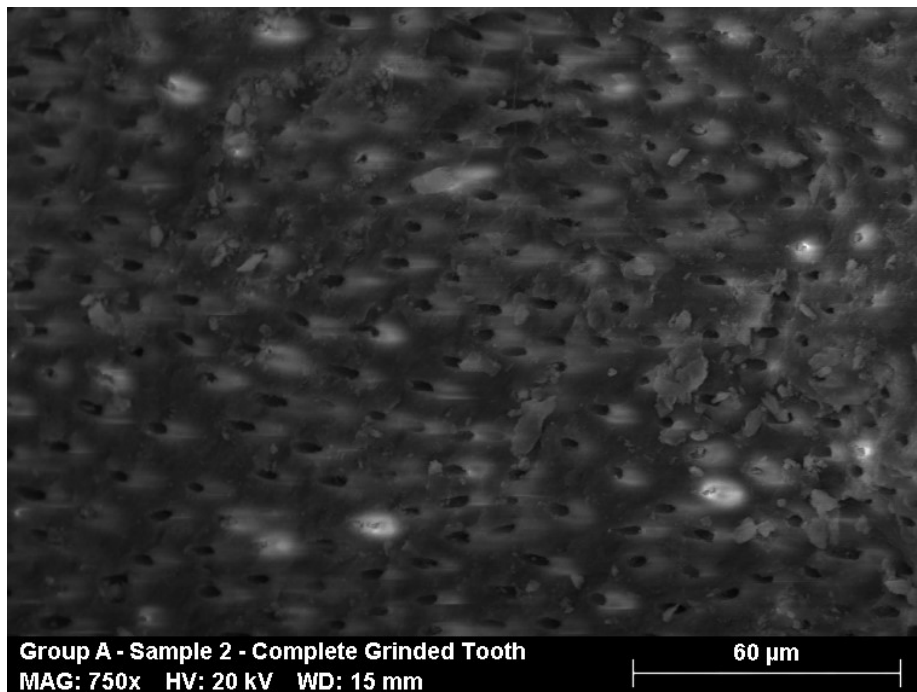


Figura 5: Uma das partículas de dentina do **grupo A2**, observada ao SEM (750x)

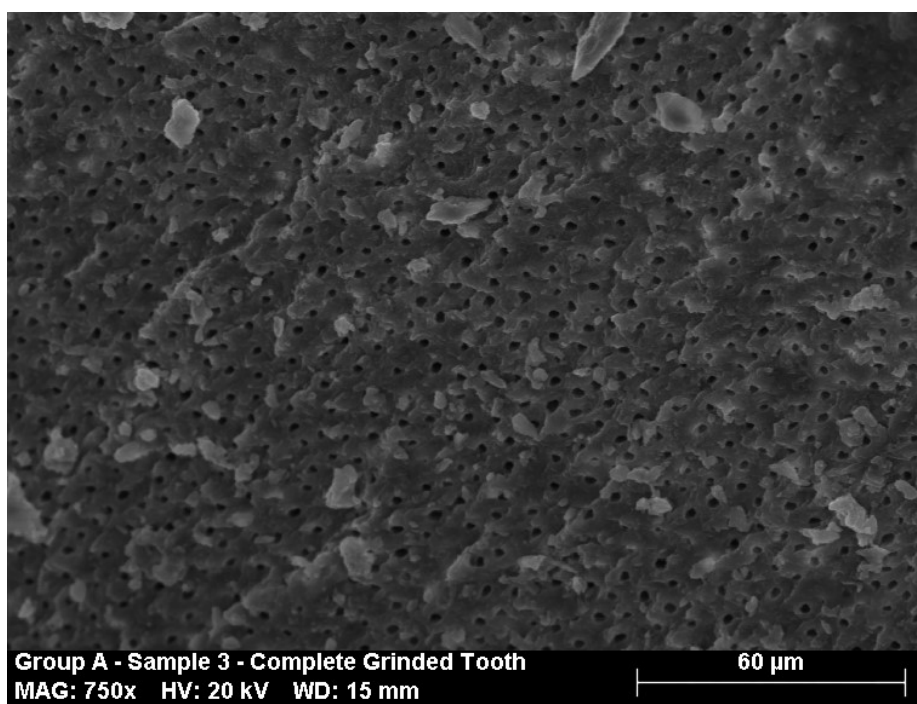


Figura 6: Uma das partículas de dentina do **grupo A3**, observada ao SEM (750x)

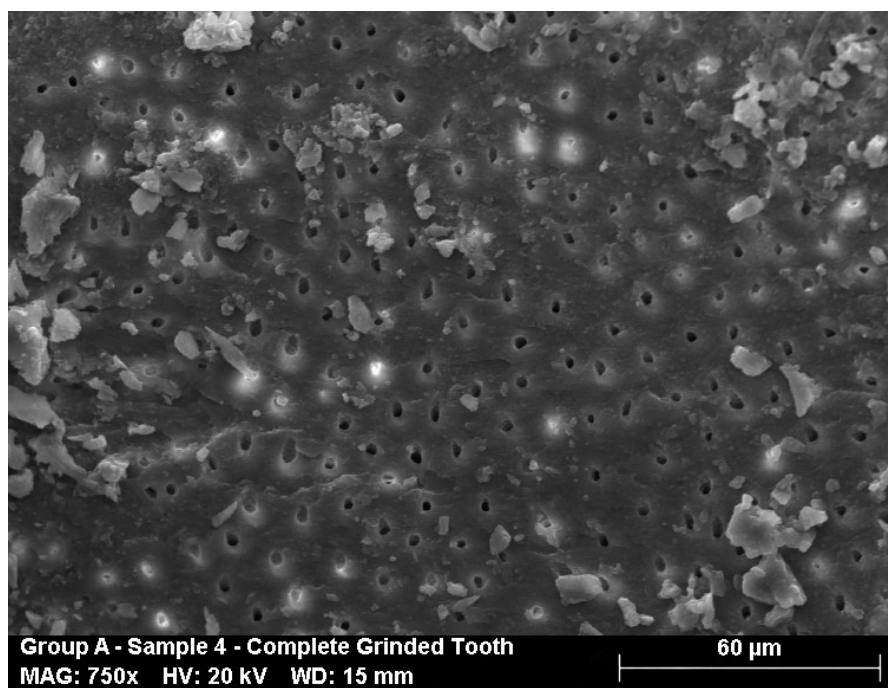


Figura 7: Uma das partículas de dentina do **grupo A4**, observada ao SEM (750x)

Na figura 8 observamos a superfície de uma partícula de dentina pertencente ao grupo B (raiz triturada) que não foi sujeita à ação da solução desinfetante (“cleanser”). Verifica-se apenas a existência de túbulos dentinários dispostos na superfície da partícula de dentina.

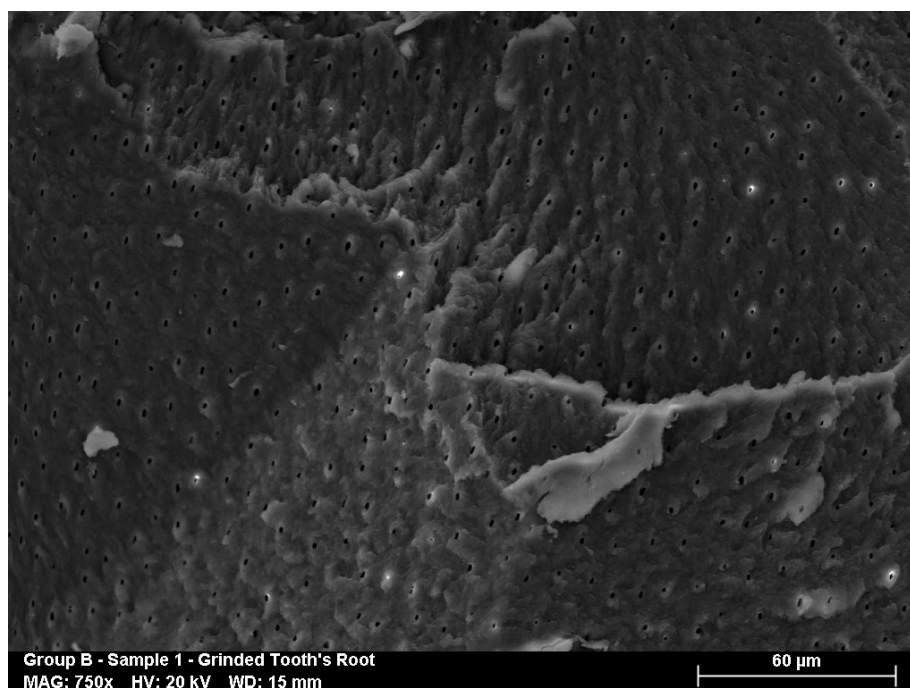


Figura 8: Uma das partículas de dentina do **grupo B1**, observada ao SEM (750x)

Nas figuras 9, 10 e 11 observa-se a superfície de partículas de dentina respeitantes ao grupo B (raiz triturada), tendo estas sofrido ação da solução desinfetante (“cleanser”), de acordo com o estipulado pela tabela 6. À semelhança da figura 8, observam-se apenas

dispostos na superfície da dentina vários túbulos dentinários. No entanto, estes apresentam um maior calibre quando comparados com os túbulos dentinários das partículas do grupo B1.

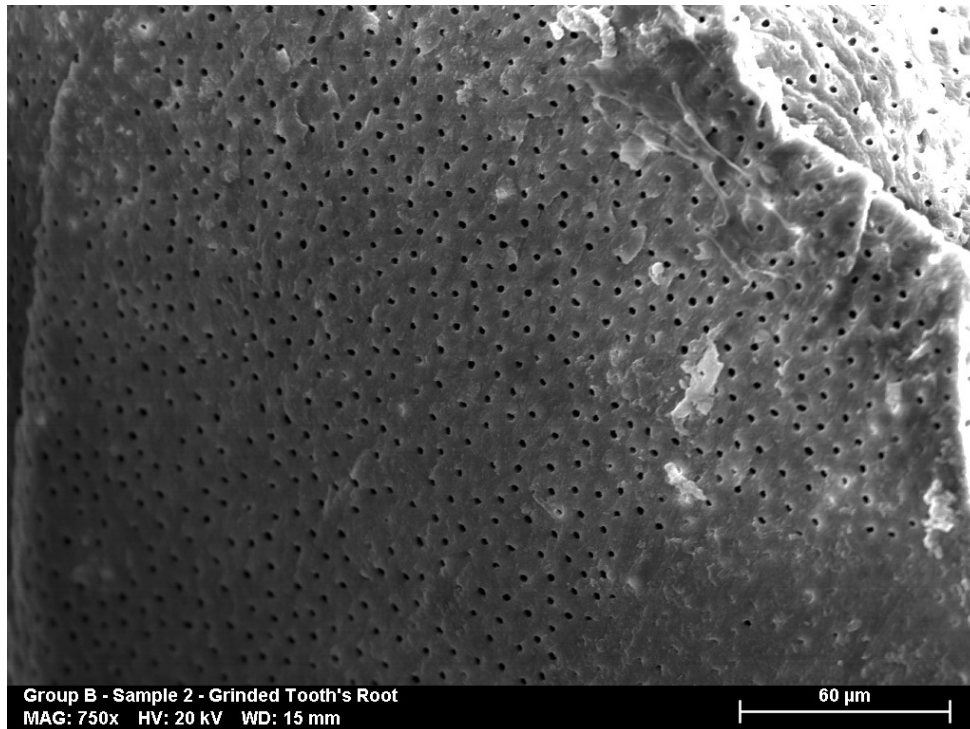


Figura 9: Uma das partículas de dentina do **grupo B2**, observada ao SEM (750x)

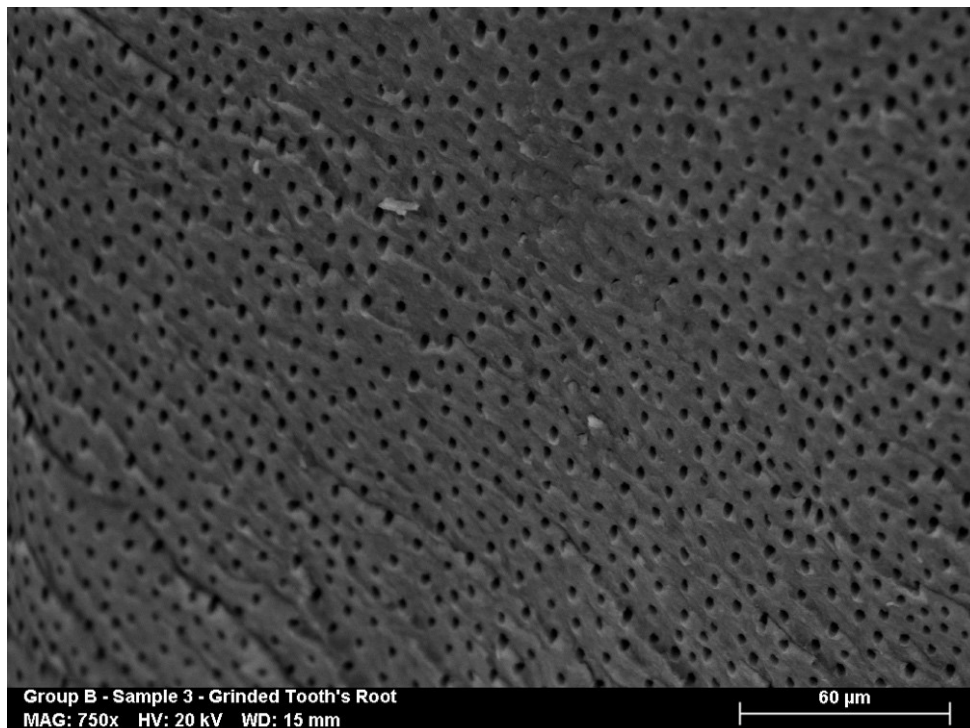


Figura 10: Uma das partículas de dentina do **grupo B3**, observada ao SEM (750x)

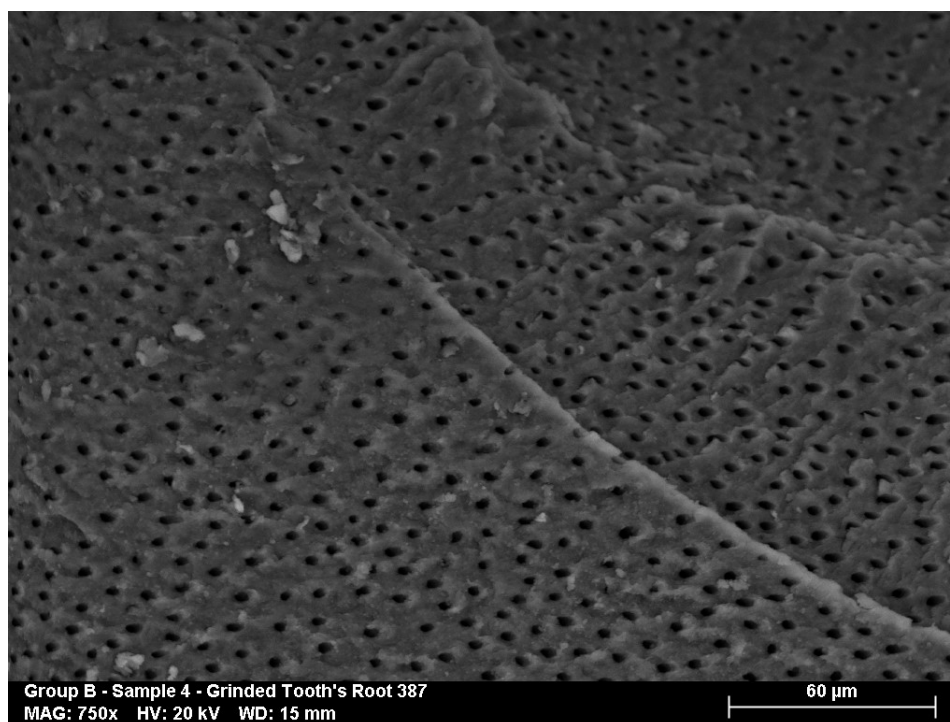


Figura 11: Uma das partículas de dentina do **grupo B4**, observada ao SEM (750x)

De seguida, com recurso ao programa informático “ImageJ”, mediu-se o diâmetro de 10 túbulos dentinários ao acaso de cada uma das imagens recolhidas, num total de 800 túbulos dentinários. Para tal, começou-se por fazer uma medição da escala da imagem para calibração do programa (ver figura 12).

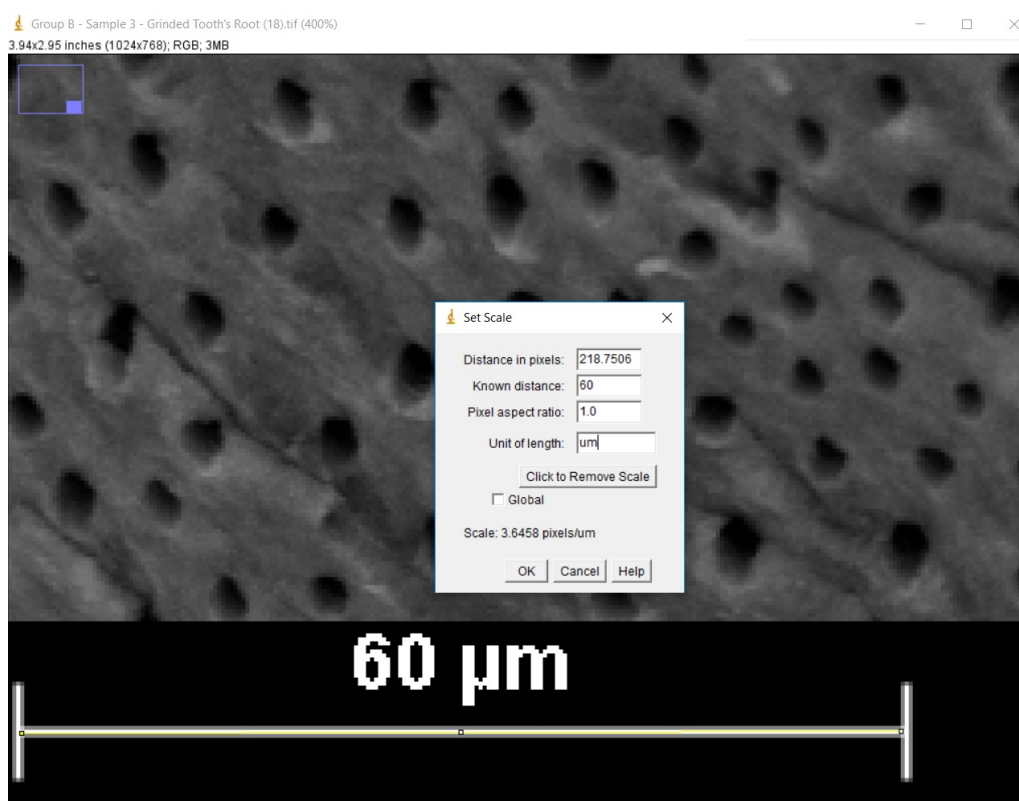


Figura 12: Medição da escala da imagem com o programa informático "ImageJ"

Após o programa estar calibrado, inicia-se a medição dos diâmetros dos túbulos dentinários, de acordo com o demonstrado na figura 13. O valor de cada medição aparece numa tabela gerada automaticamente (ver figura 13).

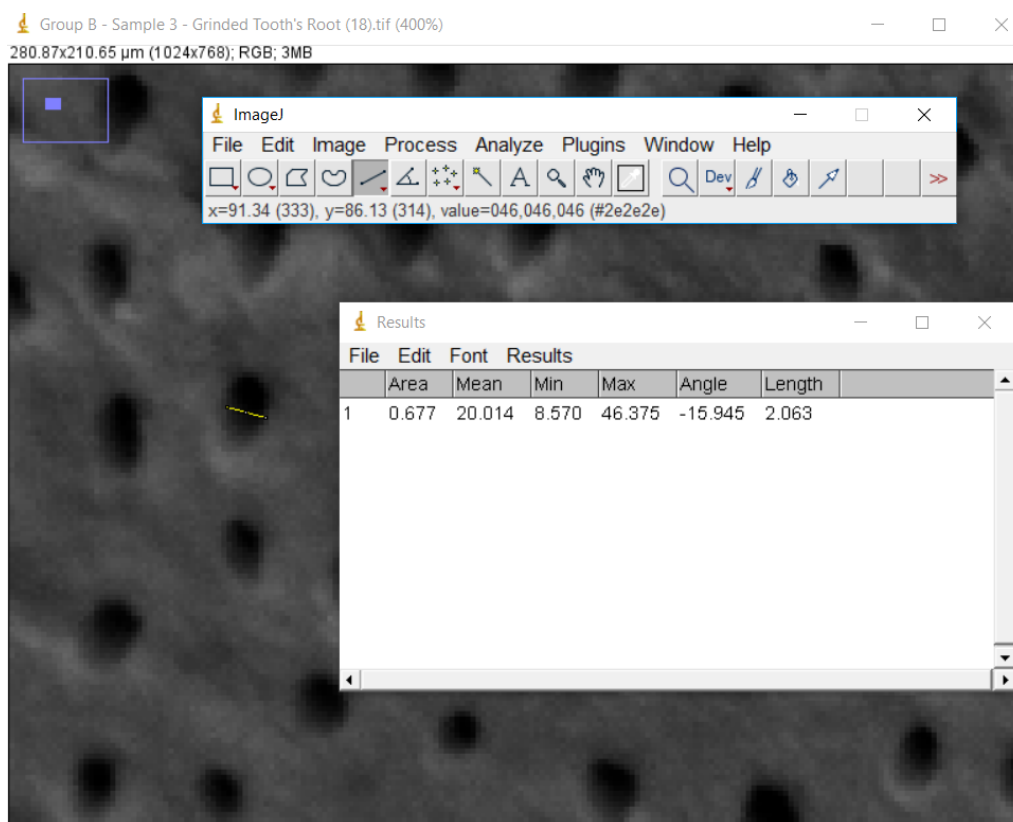


Figura 13: Medição do diâmetro de abertura de um túbulo dentinário com o programa informático "ImageJ"

2. Metodologia da análise estatística

Na caracterização global da amostra as variáveis numéricas são resumidas através da média, desvio padrão (DP), erro padrão (EP) intervalo de confiança de 95% para média (IC 95%), mínimo e máximo.

Para avaliar a primeira hipótese de estudo (H1) foi empregue teste t-student para amostras independentes, de forma a comparar os grupos A e B. Relativamente à segunda hipótese de estudo (H2), verificando-se igualdade de variâncias, utilizou-se um teste one-way ANOVA, com comparações múltiplas de Bonferroni e, quando não se verificou igualdade de variâncias, recorreu-se a uma correção de Welch ANOVA e teste de comparações múltiplas de Games-Howell.

A análise estatística foi realizada com o software IBM SPSS versão 24.0, 2016 (IBM Corporation, New York, USA).

3. Caracterização estatística da amostra

A Tabela 8 apresenta os resultados alusivos às estatísticas descritivas da abertura dos túbulos dentinários segundo o grupo e tempo de ação da solução desinfetante (“cleanser”). Nesta, podemos verificar a forma como as médias dos diâmetros dos túbulos dentinários variam consoante o tempo de ação da solução desinfetante (“cleanser”). No que toca ao grupo A, verifica-se que a média dos diâmetros dos túbulos dentinários do grupo A2 é superior à média dos diâmetros dos túbulos dentinários do grupo A1. No entanto, a média do diâmetro dos túbulos dentinários do grupo A3 é inferior à do grupo A2, voltando a aumentar no grupo A4. No que toca ao grupo B, temos que a média dos diâmetros dos túbulos dentinários vai aumentando progressivamente do grupo B1 até ao grupo B4.

Grupo	Número de túbulos dentinários	Média	DP	EP	IC 95% para média		Mínimo	Máximo	
					Limite inferior	Limite superior			
Total (N=4)	400	1,526	0,631	0,032	1,464	1,588	0,435	3,875	
Grupo A	A1 - sem tratamento (N=1)	100	1,223	0,507	0,051	1,123	1,324	0,495	2,557
	A2 - tratado durante 3 minutos (N=1)	100	1,697	0,697	0,070	1,559	1,835	0,435	3,208
	A3 - tratado durante 7 minutos (N=1)	100	1,527	0,587	0,059	1,411	1,644	0,622	3,325
	A4 - tratado durante 12 minutos (N=1)	100	1,658	0,614	0,061	1,536	1,780	0,737	3,875
Total (N=4)	400	1,499	0,520	0,026	1,447	1,550	0,547	3,193	
Grupo B	B1 - sem tratamento (N=1)	100	1,188	0,394	0,039	1,110	1,267	0,547	2,721
	B2 - tratado durante 3 minutos (N=1)	100	1,463	0,494	0,049	1,365	1,561	0,685	3,137
	B3 - tratado durante 7 minutos (N=1)	100	1,656	0,512	0,051	1,555	1,758	0,645	3,022
	B4 - tratado durante 12 minutos (N=1)	100	1,687	0,519	0,052	1,584	1,789	0,686	3,193

Tabela 8: Estatística descritiva do diâmetro dos túbulos dentinários segundo o grupo e o tempo de ação da solução desinfetante ("cleanser")

Não se verificou a existência de uma distribuição normal para todos os subgrupos em estudo ($p < 0,05$), exceto para o subgrupo B4, onde se verificou a existência de uma distribuição normal ($p > 0,05$). Procedeu-se à eliminação dos outliers.

Realizando a comparação entre os grupos A e B, recorreu-se a um teste t-student para amostras independentes (Tabela 9), não se verificando diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ($p > 0,05$).

Não se verificou a presença de homogeneidade de variâncias para o grupo A ($p < 0,05$), pelo que se procedeu à realização de uma correção de Welch ANOVA (Tabela 10) e a um teste de comparações múltiplas de Games-Howell (Tabela 11) para comparação das médias dos diâmetros dos túbulos dentinários dos subgrupos do grupo A. Os

resultados destes testes permitem concluir que há diferenças estatisticamente significativas entre o subgrupo A1 e os restantes subgrupos do grupo A (A2, A3 e A4).

Grupo	Número de túbulos dentinários	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	t	p
Grupo A (N=4)	390	1,526	0,631	0,032	0,684	0,494
Grupo B (N=4)	390	1,499	0,520	0,026		

Tabela 9: Estatística descritiva do diâmetro dos túbulos dentinários segundo o grupo e teste t para comparação de grupos

Grupo A	Nº de tubulos	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	F ¹	P
A1 -sem tratamento (N=1)	100	1,223	0,507	0,051	11,837	0,000*
A2 - tratado durante 3 minutos (N=1)	100	1,697	0,697	0,070		
A3 - tratado durante 7 minutos (N=1)	98	1,492	0,537	0,054		
A4 - tratado durante 12 minutos (N=1)	92	1,518	0,387	0,040		

* p < 0,05; ¹ Correção de Welch

Tabela 10: Estatísticas descritivas do diâmetro dos túbulos dentinários do grupo A (dente completo triturado) segundo o tempo de ação da solução desinfetante ("cleanser"), e ANOVA para comparação dos tempos de ação referidos

Grupo A	Nº de tubulos	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
A1 - sem tratamento (N=1)	100	1,223	
A2 – tratado durante 7 minutos (N=1)	98		1,492
A3 - tratado durante 12 minutos (N=1)	92		1,518
A4 - tratado durante 3 minutos (N=1)	100		1,697
p		1,000	0,097

Tabela 11: Média dos diâmetros dos túbulos dentinários do grupo A (dente completo triturado) e Teste de Games-Howell para comparações múltiplas dos tempos de ação da solução desinfetante ("cleanser")

Conclui-se deste modo, que as médias dos diâmetros dos túbulos dentinários do dente completo triturado sem tratamento é mais baixa do que a média dos diâmetros dos túbulos dentinários dos dentes completos triturados que sofreram ação da solução desinfetante ("cleanser").

Relativamente ao grupo B, verificou-se a existência de homogeneidade de variâncias (p > 0,05), tendo-se realizado um teste one-way ANOVA (Tabela 12), seguido de um teste de comparações múltiplas de Bonferroni (Tabela 13) para comparação das médias dos diâmetros dos túbulos dentinários dos subgrupos do grupo B. Os resultados destes testes permitem concluir que há diferenças estatisticamente significativas entre o subgrupo B1 e os restantes subgrupos do grupo B (B2, B3 e B4).

Grupo B	Número de túbulos dentinários	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	F	P
sem tratamento (N=1)	99	1,173	0,394	0,039	22,627	0,000*
tratado durante 3 minutos (N=1)	97	1,419	0,494	0,049		
tratado durante 7 minutos (N=1)	95	1,589	0,512	0,051		
tratado durante 12 minutos (N=1)	99	1,671	0,519	0,052		

* $p < 0,05$

Tabela 12: Estatísticas descritivas do diâmetro dos túbulos dentinários do grupo B (raiz dentária triturada) de acordo com o tempo de ação da solução desinfetante ("cleanser"), e ANOVA para comparação dos tempos de ação referidos

Grupo B	Número de túbulos dentinários	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
sem tratamento (N=1)	99	1,188		
tratado durante 3 minutos (N=1)	97		1,463	
tratado durante 7 minutos (N=1)	95			1,656
tratado durante 12 minutos (N=1)	99			1,687
p		1,000	1,000	0,978

Tabela 13: Média dos diâmetros dos túbulos dentinários do grupo B (raiz dentária triturada) e Teste de Bonferroni para comparações múltiplas dos tempos de ação da solução desinfetante ("cleanser")

Conclui-se assim, que a média dos diâmetros dos túbulos dentinários da raiz dentária triturada sem tratamento é mais baixado que a média dos diâmetros dos túbulos dentinários das raízes dentárias trituradas que sofreram ação da solução desinfetante ("cleanser").

4. Determinação da composição da superfície das partículas de dentina autógena mineralizada

Para melhor caracterizar a superfície da amostra, recorreu-se à função de espectroscopia de raio x por dispersão em energia (EDS). Para tal, foi captada uma imagem de uma partícula de dentina do grupo A com uma ampliação de 3500x e foram selecionados vários pontos (Esmalte 1, Esmalte 2, Dentina 1 e Dentina 2), os quais foram estudados quanto à sua composição química (ver figura 14).

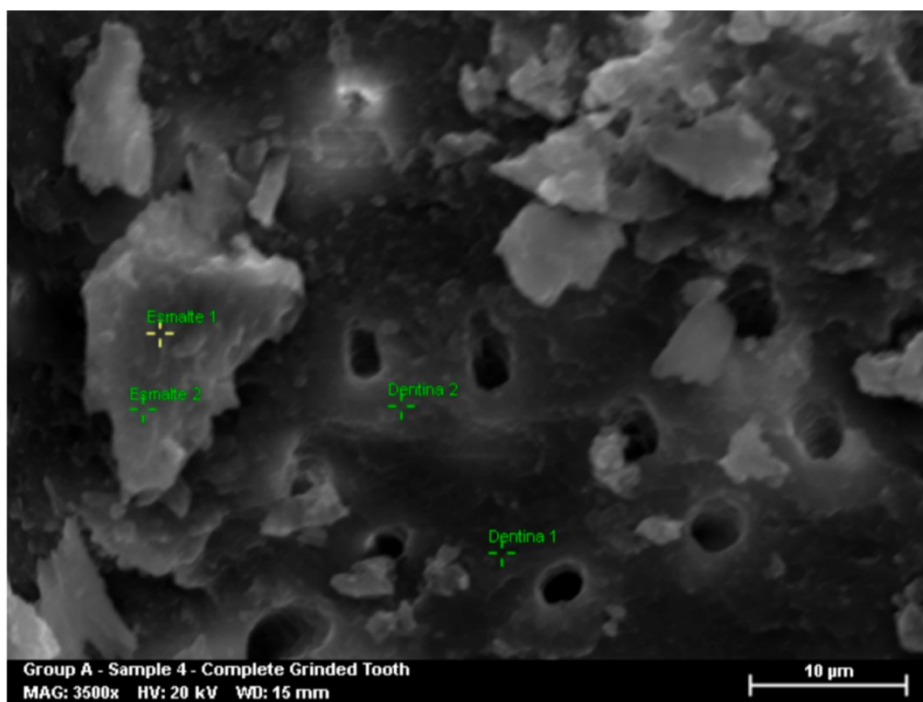


Figura 14: Dente Completo Triturado observado ao SEM (3500x)

Tanto o gráfico da figura 15 como a tabela 13 apresentam os valores do estudo de EDS do ponto “Esmalte 1”. Verifica-se que neste ponto existe uma grande quantidade de oxigénio, cálcio e fósforo (37,51%, 32,64% e 14,48%, respetivamente).

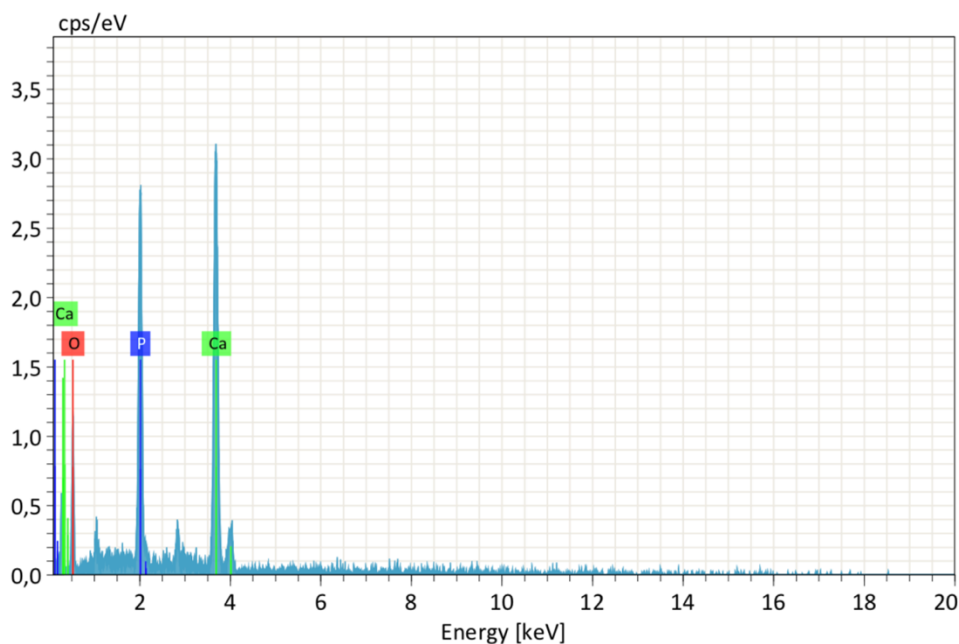


Figura 15: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Esmalte 1”, presente na figura 14

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
O	8	585	37,51	44,32	64,65	9,98	26,61
Ca	20	4085	32,64	38,57	22,46	1,15	3,53
P	15	2736	14,48	17,11	12,89	0,70	4,81
		Sum	84,63	100,00	100,00		

Tabela 13: Composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Esmalte 1”, presente na figura 14

Tanto o gráfico que consta na figura 16 como a tabela 14 apresentam os resultados do estudo de EDS ao ponto “Esmalte 2”, tendo-se verificado que os elementos químicos em maior quantidade são o oxigênio, cálcio e o fósforo (29,99%, 25,39% e 11,07%, respetivamente).

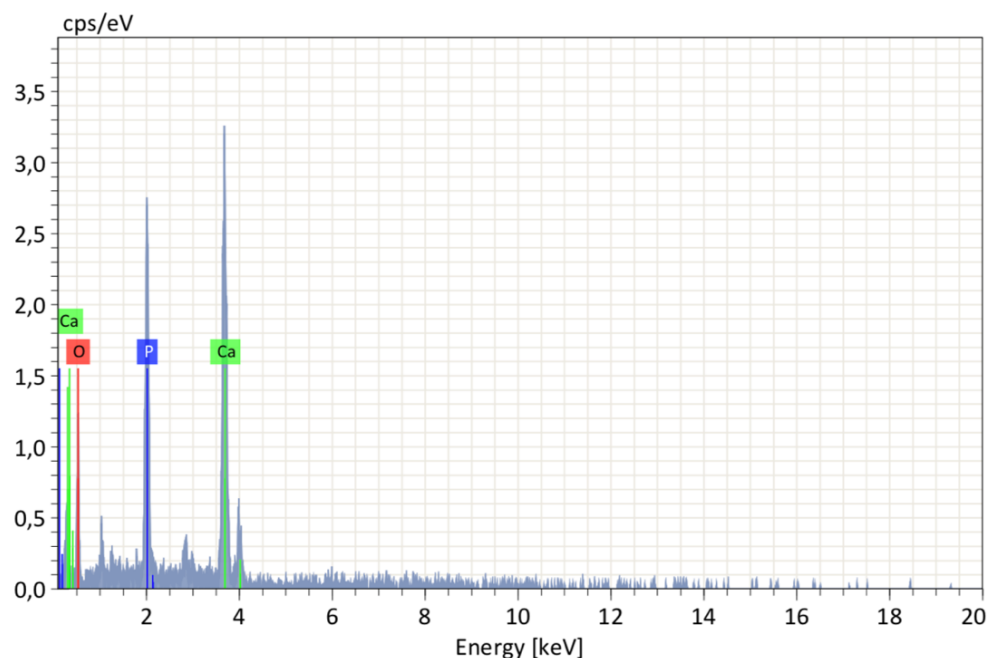


Figura 16: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Esmalte 2”, presente na figura 14

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
O	8	269	29,99	45,13	65,41	10,34	34,47
Ca	20	1792	25,39	38,21	22,11	1,04	4,10
P	15	1205	11,07	16,66	12,47	0,62	5,60
		Sum	66,45	100,00	100,00		

Tabela 14: Composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Esmalte 2”, presente na figura 14

Na tabela 15 e no gráfico presente na figura 17, encontram-se representados os resultados do estudo de EDS ao ponto “Dentina 1”. Os elementos químicos prevalentes foram o oxigénio (21,68%), cálcio (20,73%), carbono (12,76%) e fósforo (10,54%).

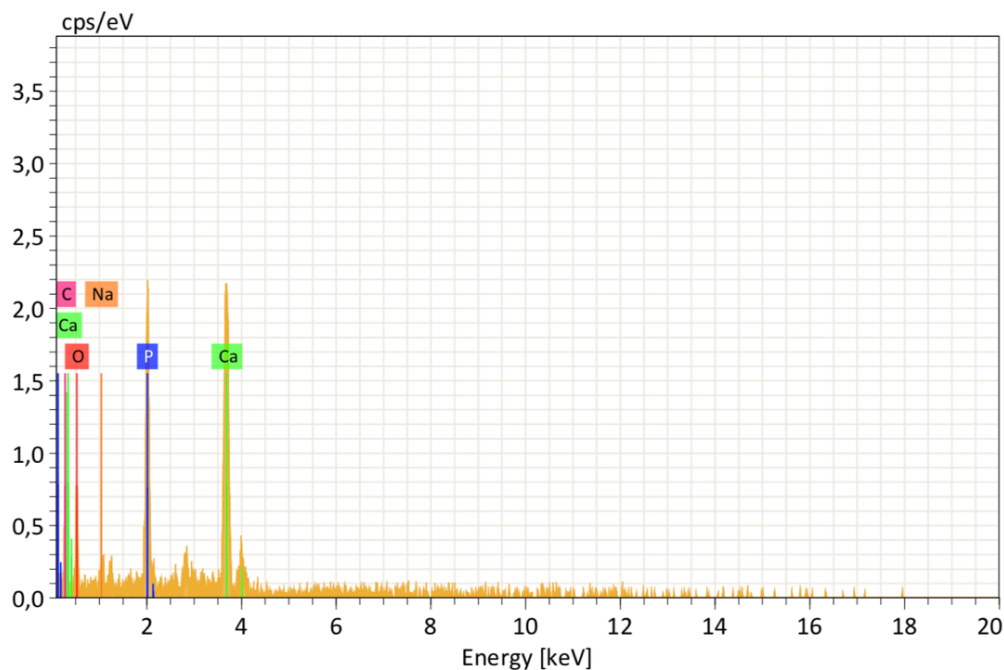


Figura 17: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Dentina 1”, presente na figura 14

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
O	8	135	21,68	32,33	40,65	9,65	44,53
Ca	20	1199	20,73	30,92	15,52	0,94	4,54
C	6	77	12,76	19,03	31,87	7,14	55,92
P	15	770	10,54	15,72	10,21	0,66	6,22
Na	11	57	1,34	2,00	1,75	0,26	19,72
		Sum	67,05	100,00	100,00		

Tabela 15: Composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Dentina 1”, presente na figura 14

Na tabela 16 e no gráfico espelhado na figura 18, encontram-se os resultados do estudo de EDS ao ponto “Dentina 2”, verificando-se que os elementos químicos prevalentes foram o cálcio (17,16%), oxigénio (15,32%), carbono (15,24%) e fósforo (10,15%).

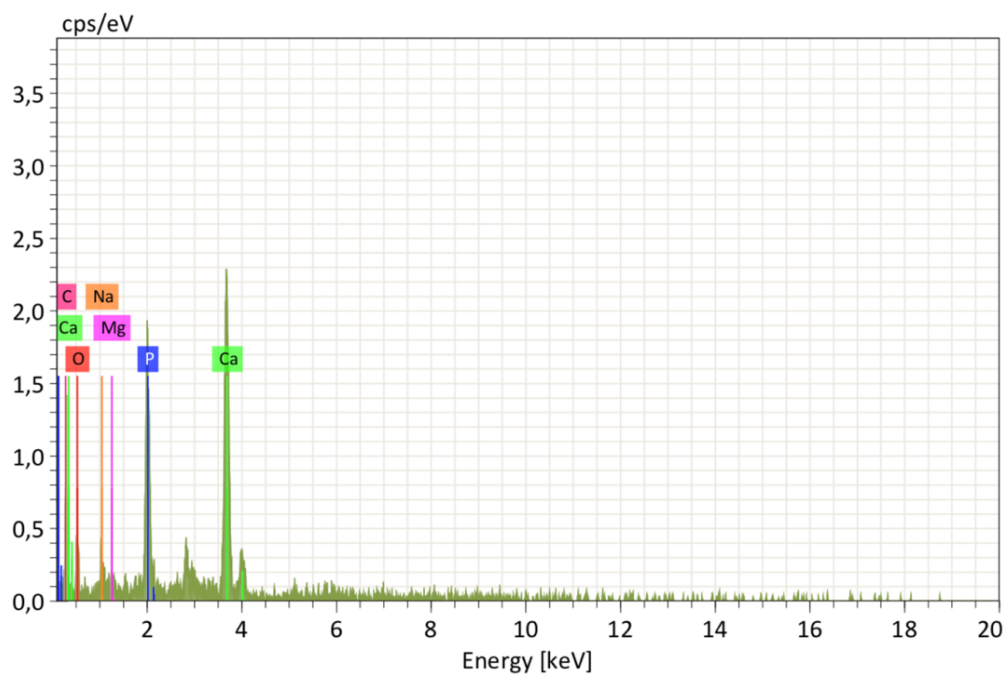


Figura 18: Gráfico da composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Dentina 2”, presente na figura 14

Element	At. No.	Netto	Mass [%]	Mass Norm. [%]	Atom [%]	abs. error [%] (1 sigma)	rel. error [%] (1 sigma)
Ca	20	1697	17,16	28,75	14,02	0,72	4,20
O	8	138	15,32	25,67	31,35	6,77	44,21
C	6	146	15,24	25,54	41,54	6,59	43,24
P	15	1012	10,15	17,00	10,72	0,59	5,84
Na	11	84	1,38	2,31	1,96	0,24	17,36
Cl	17	46	0,44	0,74	0,41	0,10	21,82
		Sum	59,70	100,00	100,00		

Tabela 16: Composição química obtida através de uma análise de EDS ao ponto “Dentina 2”, presente na figura 14

Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica – Estudo experimental in vitro.

V. Discussão

1. Pertinência do tema

Atualmente, o tratamento do edentulismo encontra-se centrado na reabilitação com recurso à colocação de implantes dentários (Iocca et al., 2017; Milinkovic & Cordaro, 2014).

Por associação, é de fulcral importância a manutenção de um volume ósseo pós-extração adequado para a ocorrência de sucessos ao nível da reabilitação implantológica, sendo portanto a gestão da cicatrização alveolar um fator de extrema relevância (Atieh et al., 2015; Grunder et al., 2005; Hämmerle et al., 2012; Nicolas et al., 2007; Vignoletti et al., 2012).

Várias foram as técnicas de regeneração óssea propostas para aumentar as dimensões do osso alveolar, a fim de obter um volume e estabilidade ósseas apropriados para uma reabilitação com implantes dentários (Milinkovic & Cordaro, 2014).

Apesar de se considerar o osso autólogo como sendo o “gold standard” no âmbito da regeneração óssea, este apresenta algumas desvantagens, como o aumento da morbidade do indivíduo, dor, possível infeção do local dador, ocorrência de lesões viscerais decorrentes do processo de recolha óssea ou até a disponibilidade limitada de osso (Oryan et al., 2015; Tang et al., 2016).

Numa tentativa de solucionar as desvantagens mencionadas anteriormente, surgiram vários tipos de materiais para uso na área da regeneração óssea (Milinkovic & Cordaro, 2014).

Dada a semelhança que se verifica entre o osso alveolar e a dentina, esta última tem atraído atenções para o potencial que apresenta no campo da regeneração óssea. Foram sugeridos vários tipos de tratamento para a dentina, para futura utilização desta como material de enxerto. Foi mesmo proposta uma mudança de paradigma no que diz respeito ao tratamento dos dentes extraídos por motivo periodontal ou por motivo funcional, devendo estes deixar de ser tratados como materiais descartáveis (Binderman et al., 2014; Tabatabaei et al., 2016).

Foi desenvolvida uma nova técnica de processamento de dentina que consiste na sua utilização imediatamente após a realização da extração dentária, sofrendo o dente um processo de trituração e desinfeção que dura apenas cerca de 15 minutos. Desta forma, é

combatida uma das principais desvantagens de outras técnicas de processamento de dentina: o tempo de processamento necessário para efetivamente se poder utilizar a dentina mineralizada como material de enxerto (Binderman et al., 2014).

2. Análise do estudo realizado

O objetivo deste estudo prende-se com a caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada, sendo esta triturada com recurso ao aparelho “Smart Dentin Grinder[®]” e tratada com uma solução alcoólica básica de NaOH e álcool (“cleanser”) e uma solução fosfatada tampão (PBS), tendo-se recorrido ao microscópio eletrónico de varrimento (SEM) para a realização das observações.

A solução tampão (PBS) foi adicionada ao particulado imediatamente após a contabilização do tempo de ação da solução desinfetante (“cleanser”) proposto para cada grupo de estudo e sua remoção, com o intuito de travar a ação química da solução desinfetante (“cleanser”). Assim, é-nos permitido estudar a ação da solução de desinfecção (“cleanser”) nos tempos propostos, caso contrário, não iríamos conseguir controlar o seu tempo de atuação.

Tal como no estudo realizado por Binderman et al. (2014), foram observados ao SEM partículas de um particulado de dentina autógena humana mineralizada após sofrerem ação da solução desinfetante (“cleanser”), com ampliações de 750x. No entanto, enquanto que no referido estudo foram apenas observadas partículas de dentina integrantes de uma raiz triturada, na presente investigação optou-se também por observar partículas de dentina de um dente completo triturado.

Os resultados obtidos permitem afirmar que não existe uma variação estatisticamente significativa entre o diâmetro dos túbulos dentinários medidos para um dente completo triturado e para uma raiz dentária triturada, pelo que a presença da coroa dentária no particulado de dentina não terá qualquer influência sobre a ação da solução desinfetante (“cleanser”) nos túbulos dentinários. Sugere-se, ainda assim, a realização de estudos “in vivo” para se conseguir analisar de que forma a presença dos fragmentos de esmalte na superfície do particulado de dentina autógena humana mineralizada influenciará a quantidade de osso que é possível regenerar e a sua densidade, visto que estas são variáveis de enorme relevância para o desfecho de uma cirurgia de regeneração óssea (Kim, E., 2015; Tang et al., 2016).

No geral, verifica-se um aumento do diâmetro dos túbulos dentinários após a imersão do particulado de dentina autógena humana mineralizada na solução desinfetante (“cleanser”), sendo estes resultados concordantes com o que Binderman et al. (2014) verificou nas suas observações, apontando para um efeito eficaz da solução desinfetante. A percentagem de 30% de álcool presente na solução desinfetante (“cleanser”), para além de possuir ação bactericida, potencia a ação do NaOH, facilitando a eliminação da componente orgânica (Calvo-Guirado et al., 2018). Será, no entanto, interessante levar a cabo a realização de estudos bacteriológicos de forma a poder-se compreender qual o grau de eficácia de dissolução da matéria orgânica por parte da solução desinfetante (“cleanser”).

Este estudo permitiu-nos também perceber que, enquanto num dente completo triturado não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na média dos diâmetros dos túbulos dentinários dos grupos que sofreram ação da solução desinfetante (“cleanser”), numa raiz dentária triturada existe uma diferença estatisticamente significativa entre as médias dos túbulos dentinários aos 3 minutos e aos 7 ou 12 minutos. No entanto, ainda para a raiz dentária triturada, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de ação da solução desinfetante (“cleanser”) aos 7 e 12 minutos. Desta forma, torna-se interessante analisar em estudos futuros como varia a média dos diâmetros dos túbulos dentinários consoante o tempo de aplicação da solução desinfetante (“cleanser”), sugerindo-se o aumento da amostra e dos tempos de ação em estudo, uma vez que esta é uma variável que influencia o custo da técnica, o tempo de cadeira e os resultados clínicos.

O recurso a dentina autógena humana mineralizada apresenta como desvantagem, em relação a outros métodos de processamento de dentina como o de desmineralização, o facto de possuir uma componente mineral elevada. Esta característica não facilita a formação de novo tecido ósseo devido à elevada cristalinidade da dentina e baixo grau de porosidade, que interferem com a migração, adesão e proliferação das células vasculares e mesenquimais (Eun-Seok Kim, 2015). Ainda assim, verificando-se o aumento do diâmetro dos túbulos dentinários com a imersão deste material de enxerto na solução desinfetante (“cleanser”), podemos inferir que estamos a aumentar a sua porosidade, fator que vem contrariar as desvantagens descritas anteriormente.

Verificou-se que no Grupo A (dente completo triturado), independentemente do tempo de ação da solução desinfetante (“cleanser”), a superfície dentinária estava coberta por pequenos fragmentos (5-20 μm). A fim de se determinar qual a constituição destas

pequenas partículas, recorreu-se à função de espectroscopia de raio x por dispersão em energia (EDS) do microscópio eletrónico de varrimento (SEM). Os resultados obtidos revelam que as partículas em questão apresentam uma maior constituição de cálcio quando comparadas com a constituição da superfície da dentina, apontando para uma maior mineralização das mesmas.

Tanto o esmalte como a dentina apresentam na sua constituição uma componente mineral de hidroxiapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$). No entanto, enquanto que no esmalte este representa cerca de 97% da sua constituição, na dentina representa apenas 70% da sua constituição, juntando-se a esta uma componente mineral (20%) e água (10%) (Chun, Choi, & Lee, 2014).

Assim, podemos extrapolar que as pequenas partículas dispostas sobre a superfície das partículas de dentina autógena mineralizada do grupo A poderão tratar-se de fragmentos de esmalte.

VI. Conclusão

Após o trabalho de investigação e depois de formuladas as hipóteses, verificou-se que a presença de esmalte num enxerto de dentina autógena humana mineralizada não altera a ação da solução desinfetante (“cleanser”) sobre os diâmetros dos túbulos dentinários, suportando-se a hipótese nula H1.0. (não existem diferenças estatisticamente significativas entre a abertura dos túbulos dentinários obtidos a partir de um dente triturado na totalidade e a abertura dos túbulos dentinários obtidos a partir de uma raiz dentária triturada.).

Também se verificou que a solução desinfetante (“cleanser”), proposta pelo fabricante como parte integrante do protocolo de preparação do enxerto de dentina autógena humana mineralizada, contribui para uma abertura dos túbulos dentinários. Desta forma, é suportada a hipótese teste H2.1. (existem diferenças estatisticamente significativas na abertura dos túbulos dentinários após imersão do particulado de dentina autógena mineralizada numa solução alcoólica básica, após observação com recurso a microscopia eletrónica).

Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica – Estudo experimental in vitro.

VII. Perspetivas Futuras

A dentina tem revelado um enorme potencial no que toca à sua aplicabilidade no campo da regeneração óssea. Esta apresenta várias semelhanças com o osso alveolar, tanto a nível estrutural como de composição e vem colmatar várias desvantagens inerentes a outros materiais de enxerto, apresentando maior biodisponibilidade e características que potenciam a neoformação óssea como o facto de libertar fatores de crescimento.

Encontram-se descritos vários métodos de processamento de dentina para posterior aplicação enquanto material de enxerto. A presente investigação versa sobre uma técnica de processamento de dentina que reduz o tempo de preparação do enxerto, quando comparado com as restantes técnicas descritas, constituindo esta uma das suas principais vantagens.

Sugere-se a realização de futuros estudos, tanto “in vitro” como “in vivo”, para melhor compreender os efeitos do protocolo de preparação de um enxerto de dentina autógena humana mineralizada e seu possível desfecho clínico, tempo de cadeira e custos associados.

De forma a estudar a variação da média dos diâmetros dos túbulos dentinários consoante o tempo de aplicação da solução desinfetante (“cleanser”), seria interessante aumentar o número de amostras, bem como o número de tempos de ação em estudo.

Também se mostra relevante a realização de estudos bacteriológicos de forma a poder-se compreender qual o grau de eficácia de dissolução da matéria orgânica por parte da solução desinfetante (“cleanser”).

Demonstra-se também como pertinente a realização de um estudo “in vivo” que permita analisar qual a influência que as partículas de esmalte dispostas na superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada irão exercer sobre a quantidade e densidade ósseas obtidas após uma cirurgia de regeneração óssea.

Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica – Estudo experimental in vitro.

Bibliografia

- Araújo, M. G., & Lindhe, J. (2009). Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*, 20(6), 545–549. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2008.01703.x>
- Araújo, M., Silva, C., Misawa, M., & Sukekava, F. (2015). Alveolar socket healing : what can we learn ?, 68, 122–134.
- Ashman, A. (2000). Postextraction Ridge Preservation Using a Synthetic Alloplast. *Implant Dentistry*, 9(2), 168–176. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1097/00008505-200009020-00011>
- Atieh, A., Alsabeeha, M., Payne, T., Duncan, W., Faggion, M., & Esposito, M. (2015). Interventions for replacing missing teeth : alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development (Review), (5). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010176.pub2.www.cochranelibrary.com>
- Atiya, B. K., & Abdulrazzak, S. (2014). Liquid Nitrogen–Treated Autogenous Dentin as Bone Substitute: An Experimental Study in a Rabbit Model, 165–171. <https://doi.org/10.11607/jomi.te54>
- Atwood, D. A. (1963). Postextraction changes in the adult mandible as illustrated by microradiographs of midsagittal sections and serial cephalometric roentgenograms. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 13(5), 810–824. [https://doi.org/10.1016/0022-3913\(63\)90225-7](https://doi.org/10.1016/0022-3913(63)90225-7)
- Avila-Ortiz, G., Elangovan, S., Kramer, K. W. O., Blanchette, D., & Dawson, D. V. (2014). Effect of Alveolar Ridge Preservation after Tooth Extraction. *Journal of Dental Research*, 93(10), 950–958. <https://doi.org/10.1177/0022034514541127>
- Binderman, I., Hallel, G., Nardy, C., Yaffe, A., & Sapoznikov, L. (2014). A Novel Procedure to Process Extracted Teeth for Immediate Grafting of Autogenous Dentin. *Interdisciplinary Medicine and Dental Science*, 2(6), 2–6. <https://doi.org/10.4172/jimds.1000154>
- Bose, S., Roy, M., & Bandyopadhyay, A. (2012). Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>
- Brkovic, B. M. B., Prasad, H. S., Rohrer, M. D., Konandreas, G., Agrogiannis, G., Antunovic, D., & Sándor, G. K. B. (2012). Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing:

- Clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. *Clinical Oral Investigations*, 16(2), 581–590. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0531-1>
- Calvo-Guirado, J., Val, J., Ramos-Oltra, M., Martínez, C., Ramírez-Fernández, M., Maiquez-Gosálvez, M., ... Delgado-Ruiz, R. (2018). The Use of Tooth Particles as a Biomaterial in Post-Extraction Sockets. Experimental Study in Dogs José. *Dentistry Journal*, 6(12). <https://doi.org/10.3390/dj6020012>
- Chun, K. J., Choi, H. H., & Lee, J. Y. (2014). Comparison of mechanical property and role between enamel and dentin in the human teeth. *Journal of Dental Biomechanics*, 5. <https://doi.org/10.1177/1758736014520809>
- Darby, I., Chen, S. T., & Buser, D. (2009). Ridge Preservation Techniques for Implant Therapy. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24, 260–271. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01463.x>
- Gerritsen, A. E., Allen, P. F., Witter, D. J., Bronkhorst, E. M., & Creugers, N. H. J. (2010). Tooth loss and oral health-related quality of life: A systematic review and meta-analysis. *Health and Quality of Life Outcomes*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-8-126>
- Goldberg, M. (2011). Dentin structure composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience*, E3(2), 281. <https://doi.org/10.2741/e281>
- Gomes, M. F., Abreu, P. P. De, Rose, A., Morosolli, C., Araújo, M. M., & Vilela, G. (2006). Densitometric analysis of the autogenous demineralized dentin matrix on the dental socket wound healing process in humans Análise densitométrica da matriz dentinária desmineralizada autógena na reparação alveolar de humanos, 20(4).
- Grunder, U., Gracis, S., & Capelli, M. (2005). Influence of the 3-D bone-to-implant relationship on esthetics. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 25, 113–119. <https://doi.org/10.11607/prd.00.0624>
- Hämmerle, C. H. F., Araújo, M. G., & Simion, M. (2012). Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL. 5), 80–82. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02370.x>
- Huggins, B. Y. C., Wiseman, S. O. L., Reddi, A. H., & Ph, D. (1970). Transformation of fibroblasts by allogenic and xenogeneic transplants of demineralized tooth and bone.
- Iocca, O., Farcomeni, A., Pardiñas Lopez, S., & Talib, H. S. (2017). Alveolar ridge preservation after tooth extraction: a Bayesian Network meta-analysis of grafting materials efficacy on prevention of bone height and width reduction. *Journal of*

- Clinical Periodontology*, 44(1), 104–114. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12633>
- Jambhekar, S., Kernan, F., & Bidra, A. S. (2015). Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: A systematic review of randomized controlled clinical trials. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 113(5), 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.12.009>
- Joshi, C. P., Dani, N. H., & Khedkar, S. U. (2016). Alveolar ridge preservation using autogenous tooth graft versus beta-tricalcium phosphate alloplast : A randomized , controlled , prospective , clinical pilot study Background : Materials and Methods : Results : Conclusion :, 20(4), 429–434. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.188335>
- Joshi, C. P., Lima, C. B. D., Samat, U. C., & Karde, P. A. (2017). Comparative Alveolar Ridge Preservation Using Allogeneous Tooth Graft versus Free-dried Bone Allograft : A Randomized , Controlled , Prospective , Clinical Pilot Study Background : Materials and Methods : Study Design : Results : Conclusions :, 8(2), 211–217. <https://doi.org/10.4103/ccd.ccd>
- Kabir, A., Murata, M., Kusano, K., & Zakaria, S. M. (2014). Clinical Report Radiological Evaluation of Human Dentin Autografts in Bangladesh, 363–370.
- Khanijou, M., Seriwatanachai, D., Boonsiriseth, K., Suphangul, S., Pairuchvej, V., Srisatjaluk, R., & Wongsirichat, N. (2018). Bone graft material derived from extracted tooth : A review literature. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*, (July). <https://doi.org/10.1016/j.ajoms.2018.07.004>
- Kim, E.-S. (2015). Autogenous fresh demineralized tooth graft prepared at chairside for dental implant. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 37(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40902-015-0009-1>
- Kim, E.-S., Lee, I.-K., Kang, J.-Y., & Lee, E.-Y. (2015). Various autogenous fresh demineralized tooth forms for alveolar socket preservation in anterior tooth extraction sites: a series of 4 cases. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 37(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s40902-015-0026-0>
- Kim, Y.-K., Lee, J., Um, I.-W., Kim, K.-W., Murata, M., Akazawa, T., & Mitsugi, M. (2013). Tooth-derived bone graft material. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 39(3), 103. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2013.39.3.103>
- Kim, Y., Bang, K., Murata, M., Mitsugi, M., & Um, I. (2017). Clinical Report Retrospective Clinical Study of Allogenic Demineralized Dentin Matrix for Alveolar Bone Repair, 95–102.

- Kim, Y., & Choi, Y. (2011). Tooth Autotransplantation with Autogenous Tooth- Bone Graft : A Case Report, *79*(2), 79–84.
- Kim, Y. K., Kim, S. G., Byeon, J. H., Lee, H. J., Um, I. U., Lim, S. C., & Kim, S. Y. (2010). Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, *109*(4), 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.10.017>
- Kim, Y. K., Kim, S. G., Yun, P. Y., Yeo, I. S., Jin, S. C., Oh, J. S., ... Kim, G. W. (2014). Autogenous teeth used for bone grafting: A comparison with traditional grafting materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, *117*(1), e39–e45. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2012.04.018>
- Kim, Y. K., Kim, S., Kim, K., & Um, I.-W. (2011). Extraction Socket Preservation and Reconstruction Using Autogenous Tooth Bone Graft : Case Report, *33*(3), 264–269.
- Kim, Y., Lee, J., & Um, I. (2015). Guided Bone Regeneration Using Demineralized Dentin Matrix : Long-Term Follow-Up. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, (December), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2015.10.030>
- Kim, Y., Pang, K., Yun, P., Leem, D., & Um, I. (2016). Long-term follow-up of autogenous tooth bone graft blocks with dental implants. <https://doi.org/10.1002/ccr3.754>
- Kim, Y., Rodriguez, A. E., & Nowzari, H. (2016). The Risk of Prion Infection through Bovine Grafting Materials. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, *18*(6), 1095–1102. <https://doi.org/10.1111/cid.12391>
- Koga, T., Minamizato, T., Kawai, Y., Miura, K. I., Takashi, I., Nakatani, Y., ... Asahina, I. (2016). Bone regeneration using dentin matrix depends on the degree of demineralization and particle size. *PLoS ONE*, *11*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147235>
- Makihara, T., Sakane, M., Noguchi, H., Tsukanishi, T., Suetsugu, Y., & Yamazaki, M. (2018). Formation of osteon-like structures in unidirectional porous hydroxyapatite substitute. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 1–8. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34083>
- Milinkovic, I., & Cordaro, L. (2014). Are there specific indications for the different alveolar bone augmentation procedures for implant placement? A systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *43*(5), 606–625. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.12.004>
- Minamizato, T., Koga, T., Takashi, I., Nakatani, Y., Umebayashi, M., Sumita, Y., &

- Ikeda, T. (2017). Clinical application of autogenous partially demineralized dentin matrix prepared immediately after extraction for alveolar bone regeneration in implant dentistry: a pilot study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, (February). <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2017.02.1279>
- Morjaria, K., Wilson, R., & Palmer, R. (2014). Bone healing after tooth extraction with or without an intervention: A systematic review of randomized controlled trials. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 16(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2012.00450.x>
- Muska, E., Walter, C., Knight, A., Taneja, P., Bulsara, Y., Hahn, M., ... Dietrich, T. (2013). Atraumatic vertical tooth extraction: A proof of principle clinical study of a novel system. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 116(5), e303–e310. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2011.11.037>
- Nicolas, E., Snag-Choon, C., Stuart, F., Richard, S., & Tarnow, D. (2007). A Simplified Socket Classification and Repair Technique. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry*, 19(2), 99–104.
- Orsini, G., Jr, A. R., Mazzoni, A., Nato, F., Manzoli, L., Putignano, A., ... Breschi, L. (2012). A review of the nature, role, and function of dentin non-collagenous proteins. Part 2 : enzymes, serum proteins, and growth factors. *Endodontic Topics*, (3), 1–18. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00268.x>
- Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A., & Maffulli, N. (2015). Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions TL - 9. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 9 VN-re, 1–27. <https://doi.org/10.1186/1749-799X-9-18>
- Pang, K. M., Um, I. W., Kim, Y. K., Woo, J. M., Kim, S. M., & Lee, J. H. (2017). Autogenous demineralized dentin matrix from extracted tooth for the augmentation of alveolar bone defect: a prospective randomized clinical trial in comparison with anorganic bovine bone. *Clinical Oral Implants Research*, 28(7), 809–815. <https://doi.org/10.1111/clr.12885>
- Park, S., Um, I., Kim, Y., Kim, K., & Kim, K. (2012). Clinical application of auto-tooth bone graft material. *Journal Korean Association Oral Maxillofacial Surgery*, 38, 2–8. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2012.38.1.2>
- Pilipchuk, S. P., Plonka, A. B., Monje, A., Taut, A. D., Kang, B., Giannobile, W. V, ... Medicine, O. (2015). Tissue Engineering for Bone Regeneration and Osseointegration in the Oral Cavity. *Dent Mater*, 31(4), 317–338.

- <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.01.006>.Tissue
- Pohl, V., Schuh, C., Fischer, M., & Haas, R. (2016). A New Method Using Autogenous Impacted Third Molars for Sinus Augmentation to Enhance Implant Treatment: Case Series with Preliminary Results of an Open, Prospective Longitudinal Study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 31(3), 622–630. <https://doi.org/10.11607/jomi.4172>
- Ravindran, S., George, A., Tooth, B., & Genetics, D. (2015). Engineering Mineralized and Load Bearing Tissues, 881, 129–142. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-22345-2>
- Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L., & Karring, T. (2003). Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International Journal of Periodontology & Restorative Dentistry*, 23(4), 92. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2003.10.022>
- Smith, A. J., Scheven, B. A., Takahashi, Y., Ferracane, J. L., Shelton, R. M., & Cooper, P. R. (2012). Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Archives of Oral Biology*, 57(2), 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.07.008>
- Smith, P. C., Martínez, C., Cáceres, M., & Martínez, J. (2015). Research on growth factors in periodontology. *Periodontology 2000*, 67(1), 234–250. <https://doi.org/10.1111/prd.12068>
- Tabatabaei, F. S., Tatari, S., Samadi, R., & Moharamzadeh, K. (2016). Different methods of dentin processing for application in bone tissue engineering: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 104(10), 2616–2627. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35790>
- Tan, W. L., Wong, T. L. T., Wong, M. C. M., & Lang, N. P. (2012). A systematic review of post-extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL. 5), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x>
- Tang, D., Tare, R. S., Yang, L. Y., Williams, D. F., Ou, K. L., & Oreffo, R. O. C. (2016). Biofabrication of bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration. *Biomaterials*, 83, 363–382. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.024>
- Teruel, J., Alcolea, A., Hernández, A., & Ruiz, A. (2015). Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Archives of Oral Biology*, 60(5), 768–775.

- <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.01.014>
- Tjäderhane, L., Carrilho, M. R., Breschi, L., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2012). Dentin basic structure and composition-an overview. *Endodontic Topics*, 20(1), 3–29. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2012.00269.x>
- Van Der Weijden, F., Dell’Acqua, F., & Slot, D. E. (2009). Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(12), 1048–1058. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01482.x>
- Vignoletti, F., Matesanz, P., Rodrigo, D., Figuero, E., Martin, C., & Sanz, M. (2012). Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL. 5), 22–38. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02331.x>
- Wang, R. E., & Lang, N. P. (2012). Ridge preservation after tooth extraction. *Clinical Oral Implants Research*, 23(SUPPL.6), 147–156. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02560.x>
- Weiss, A., Stern, A., & Dym, H. (2011). Technological advances in extraction techniques and outpatient oral surgery. *Dental Clinics of North America*, 55(3), 501–513. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2011.02.008>
- Young-Kyun Kim, Jeong Keun Lee, Kyung-Wook Kim, I.-W. U. and M. M. (2013). Healing Mechanism and Clinical Application of Autogenous Tooth Bone Graft Material. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications Materials*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/53200>

Anexos

1.



Clínica Dentária Universitária

Declaração da Direção Clínica para cedência de dentes do BDH para realização trabalho de projeto final do MIMD

IDENTIFICAÇÃO DO ESTUDANTE: Pedro Gil Rumor Antunes Gameiro

TÍTULO DO TRABALHO: "Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica" - Estudo experimental *in vitro*.

Excelentíssima Professora Doutora Fernanda de Mesquita

O/A aluno/a Pedro Gil Rumor Antunes Gameiro pode utilizar 5 dentes molares hígidos do Banco de dentes humanos (BDH) da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM).

Aguardo a aprovação da Comissão Científica e da Comissão de Ética, para cedência dos dentes.

Esta autorização aplica-se somente aos dentes que tenham sido efectivamente doados ao BDH, respeitando todo o circuito aprovado e certificado pela Certificação da Qualidade da Egas Moniz.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos

Monte da Caparica, 2 de Maio de 2018

Direção Clínica

2.

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 628

Ex.mo Senhor
Pedro Gameiro

Monte de Caparica, 30 de maio de 2018.

Ex.mo Senhor,

Após as opiniões recebidas dos docentes Prof. Doutor Carlos Zagalo e Prof. Francisco Proença sobre o estudo denominado "**Caracterização da superfície de um particulado de dentina autógena humana mineralizada com recurso a microscopia eletrónica – Estudo experimental in vitro**" foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Prof.^a Doutora Maria  Fernanda de Mesquita

3. Base de dados dos diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo A (dente completo triturado)

Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo A1 (µm)					Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo A2 (µm)					Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo A3 (µm)					Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo A4 (µm)				
0.686	1.370	2.289	2.045	2.058	1.475	2.488	2.522	1.099	2.210	2.077	2.059	1.264	1.653	1.694	1.482	1.759	1.412	2.168	1.396
0.686	0.738	1.826	1.636	1.379	1.475	2.454	2.344	2.043	1.508	2.206	1.833	1.718	2.093	1.605	1.744	2.302	1.601	2.279	1.171
0.566	0.833	0.753	2.086	1.719	1.508	2.587	2.522	1.000	1.636	1.943	1.944	1.442	1.392	1.071	1.696	1.737	1.288	2.335	0.737
0.700	0.685	0.578	1.883	1.265	0.985	3.104	2.195	1.608	2.233	2.073	1.880	1.141	2.134	1.108	1.562	1.740	1.523	2.127	1.101
0.835	0.822	1.155	1.829	2.233	1.227	2.561	2.607	1.108	1.429	1.750	1.652	1.141	1.569	1.319	1.360	1.280	1.164	2.340	1.244
0.800	1.070	0.817	1.574	0.739	1.883	2.786	2.504	1.099	1.829	1.814	1.577	1.236	1.068	1.067	1.323	1.620	1.720	1.989	0.737
0.960	0.698	0.578	1.686	1.372	1.563	3.115	1.789	1.511	1.332	2.290	1.174	1.135	0.785	0.837	1.292	1.508	1.174	1.515	0.972
0.739	0.919	0.913	1.646	0.999	1.563	1.508	2.470	1.099	2.719	1.760	1.511	1.477	1.503	1.067	1.263	1.831	1.310	1.351	0.914
0.686	1.043	2.557	0.818	0.823	1.552	1.067	2.504	0.824	1.646	1.689	1.685	1.483	1.256	1.141	1.212	1.220	1.180	2.211	0.818
0.549	0.833	0.913	1.293	1.669	2.719	0.985	2.195	1.000	1.838	2.290	0.648	0.706	1.970	0.891	1.140	1.646	1.213	1.071	1.393
0.991	1.906	1.478	1.838	1.672	1.036	3.136	2.400	1.094	1.451	2.145	1.224	1.361	0.716	1.929	1.854	1.761	1.281	3.875	1.392
0.777	1.235	1.669	1.475	1.825	1.099	2.214	1.182	1.103	1.568	2.461	1.602	1.149	0.901	2.669	1.412	1.599	1.054	3.598	1.758
0.495	1.172	1.372	1.429	1.282	1.282	2.565	3.208	1.103	1.684	2.642	1.578	0.933	0.970	3.325	1.496	1.556	1.102	2.869	1.482
0.550	1.735	1.478	0.818	1.511	1.948	1.649	3.172	0.986	1.468	3.170	1.120	1.106	1.578	1.849	2.060	1.556	0.993	3.403	1.550
0.661	1.098	2.530	0.985	1.762	1.174	3.205	2.102	1.354	0.757	2.666	0.740	1.294	0.952	2.401	1.746	1.887	1.226	3.403	1.456
0.661	0.549	2.090	0.818	0.788	0.801	2.571	1.608	0.684	1.451	1.790	1.376	1.073	0.699	2.341	1.734	1.650	1.270	2.954	1.547
0.916	1.413	1.372	1.035	1.159	0.824	2.089	1.381	1.368	1.196	1.854	0.870	0.920	1.036	2.103	1.940	1.637	1.169	2.939	1.829
0.755	1.552	1.940	0.915	1.024	0.801	2.492	1.567	1.042	1.070	2.282	0.757	0.776	1.008	1.402	1.930	1.650	1.121	2.469	1.456
0.661	0.614	1.646	1.508	1.448	0.550	2.206	1.182	0.798	1.234	2.294	0.740	0.776	0.622	2.401	1.903	1.650	0.896	3.157	1.166
0.934	0.835	1.998	1.227	1.395	0.435	2.024	1.660	0.798	0.917	2.155	0.870	1.317	1.272	1.678	1.412	1.683	1.413	2.475	1.224

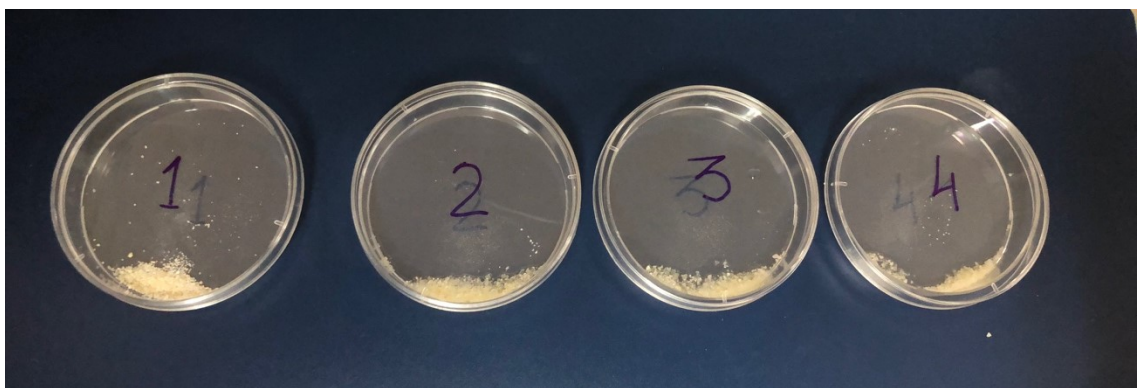
4. Base de dados dos diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo B (raiz dentária triturada)

Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo B1 (µm)					Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo B2 (µm)					Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo B3 (µm)					Diâmetros dos túbulos dentinários do Grupo B4 (µm)				
1.159	1.224	1.162	1.648	2.721	2.290	1.786	1.922	2.496	3.137	2.206	2.039	2.296	1.189	3.021	1.553	1.451	1.917	0.988	2.184
1.025	0.996	1.027	1.422	1.650	1.626	2.055	1.468	1.626	1.832	2.752	1.390	2.920	1.110	2.001	1.810	1.902	1.429	1.191	1.605
0.845	1.082	1.910	1.597	1.670	1.185	1.349	1.460	1.564	1.867	1.810	0.954	2.310	1.102	1.859	1.634	1.537	0.780	0.971	1.696
1.069	0.821	1.263	1.101	1.905	1.608	1.130	1.429	1.770	1.414	1.970	1.266	2.339	0.752	2.249	1.734	1.744	0.913	1.162	1.972
0.916	0.960	1.043	1.293	1.433	1.951	1.104	1.354	1.763	1.785	1.403	1.326	1.887	0.865	2.412	1.377	1.842	1.248	1.100	1.577
0.869	0.821	0.828	0.900	1.980	1.722	0.685	2.061	1.698	1.266	2.064	1.512	2.214	0.645	2.933	1.991	2.244	1.779	0.904	1.657
0.957	0.547	1.070	1.066	1.397	1.266	0.969	1.429	1.735	1.748	1.539	1.543	1.867	0.982	2.548	1.655	2.387	2.194	0.984	1.986
1.107	0.585	1.274	1.477	1.397	1.511	1.263	1.966	1.714	1.460	1.657	1.068	3.022	1.113	1.933	1.164	1.936	1.165	1.201	2.318
0.733	0.616	0.952	0.932	1.190	1.614	1.170	1.085	1.414	1.359	1.810	1.485	1.599	0.970	2.189	1.658	1.908	1.602	0.817	1.750
0.845	0.674	0.997	1.552	1.361	1.689	1.786	1.585	1.523	1.266	1.970	1.429	1.190	1.200	2.685	1.986	2.012	1.602	1.144	1.904
0.686	0.831	1.716	2.063	1.312	1.227	1.933	2.362	1.533	1.246	1.829	1.687	1.107	1.787	1.447	2.137	1.562	1.472	2.214	0.921
0.867	1.293	1.410	1.756	1.469	1.636	1.276	2.805	1.458	0.739	1.831	2.478	1.400	1.146	1.281	2.052	2.060	1.752	2.091	1.400
0.565	1.393	1.504	1.244	0.954	0.834	1.558	2.230	1.351	1.375	1.488	2.064	1.107	1.941	1.749	2.372	1.657	1.288	2.123	1.098
0.699	0.897	1.599	1.599	1.030	0.982	1.276	2.708	1.351	1.103	1.554	1.583	1.014	1.666	1.088	2.225	1.257	2.025	2.353	1.046
0.800	1.412	1.412	1.384	0.892	0.867	1.246	2.351	0.998	1.375	1.620	2.137	1.469	1.586	1.275	1.989	1.405	1.595	2.498	0.868
0.998	1.023	1.634	1.359	0.934	0.982	0.974	2.192	0.686	0.903	1.796	1.741	1.109	1.711	1.114	2.490	1.919	1.547	2.199	0.686
0.549	1.265	1.292	1.573	1.215	1.172	1.045	1.087	0.739	0.943	1.554	1.571	1.368	1.666	1.575	3.193	1.562	1.990	1.777	0.700
0.686	1.217	1.986	0.972	1.151	1.106	0.991	2.021	0.989	1.312	1.578	1.720	1.277	1.764	1.422	2.012	1.274	1.840	3.022	1.181
0.613	1.139	1.899	0.941	0.971	0.920	0.957	2.030	0.878	0.869	1.101	1.651	1.169	1.851	1.303	1.791	1.634	2.385	2.890	1.243
0.640	0.829	1.647	1.189	1.266	0.767	0.739	2.090	1.097	1.012	1.466	2.137	1.167	1.511	1.385	2.113	1.104	2.304	2.201	0.868

5. Smart Dentin Grinder e caixas de petri onde foram divididos os grupos de estudo



6. Caixas de petri organizadas de acordo com o grupo de estudo, contendo partículas de um enxerto de dentina autógena humana mineralizada imersas na solução desinfetante (“cleanser”)



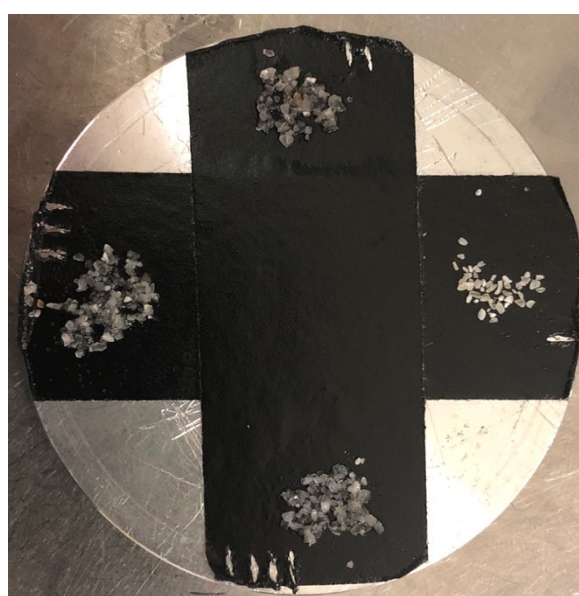
7. Caixa de petri contendo partículas de um enxerto de dentina autógena humana mineralizada imersas na solução fosfatada tampão (PBS)



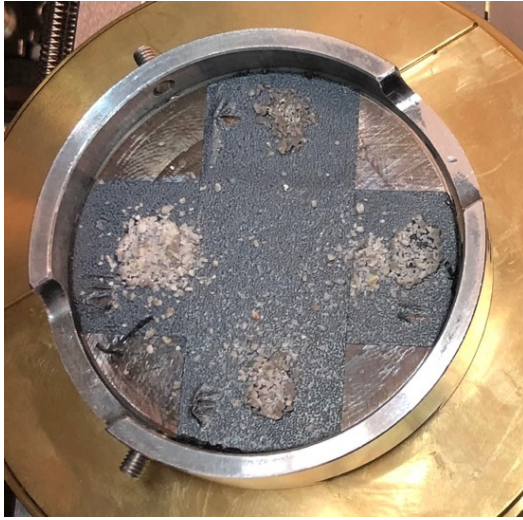
8. Prato metálico com o particulado de dentina respeitante ao Grupo A, antes do recobrimento com partículas de paládio



9. Prato metálico com o particulado de dentina respeitante ao Grupo B, antes do recobrimento com partículas de paládio



10. Prato metálico com o particulado de dentina do grupo A, após o recobrimento com paládio



11. Prato metálico com o particulado de dentina do grupo B, após o recobrimento com paládio



12. Observação do particulado de dentina autógena humana mineralizada ao microscópio eletrônico de varrimento (SEM) JSM-5400

