

**HELENA BURLAMAQUI PINHEIRO**

**INFLUÊNCIA DE CINCO GÉIS CLAREADORES E DE UM GEL  
REMINERALIZANTE SOBRE A ULTRA-ESTRUTURA E  
MICRODUREZA DO ESMALTE E DA DENTINA DE DENTES  
HUMANOS**

São Paulo

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Helena Burlamaqui Pinheiro**

**Influência de cinco géis clareadores e de um gel  
remineralizante sobre a ultra-estrutura e a microdureza do  
esmalte e da dentina de dentes humanos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Materiais Dentários

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Capel Cardoso

São Paulo

2009

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Pinheiro HB. Influência de cinco géis clareadores e de um gel remineralizante sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo, 18/05/2009

### Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a):

Titulação: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

2) Prof(a). Dr(a):

Titulação: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

3) Prof(a). Dr(a):

Titulação: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

"À minha avó Maria Isabel Santos Burlamaqui, por ser uma pessoa a frente de seu tempo, pelo exemplo de força, coragem e busca incessante de conhecimento. As conversas despretenciosas que acabavam sendo verdadeiras aulas de história, geografia, línguas, política e que me faziam viajar no tempo, conhecer lugares,... Você faz muita falta, mas ao mesmo tempo, sua lembrança está presente em atividades diárias como ler um livro, um jornal, assistir a um bom programa (todas as coisas que nos incentivava a fazer). Dedico este trabalho à você, pessoa adorável, delicada e ao mesmo tempo determinada e muito firme em suas posições. Você sempre será uma grande mestre e incentivadora, não só para mim, mas para todos os que tiveram o prazer de conviver ao seu lado e que faziam muita questão disso!"

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu orientador, **Prof. Paulo Capel**, por ter assumido minha orientação e por todo conhecimento que tem dividido comigo ao longo destes dois anos. Agradeço também, por toda sua dedicação para com esta pesquisa, sua orientação extremamente cuidadosa, detalhista e companheira e por toda preocupação que demonstra ter comigo. Tenho certeza que aprendi e tenho muito a aprender ao seu lado!

A professora, prima e amiga, **Eliza Klautau** pelo gosto à pesquisa que despertou em mim, por ser um exemplo de determinação e coragem mesmo nos momentos mais difíceis da vida. Você é uma pessoa maravilhosa para se trabalhar e ter como amiga. Quero sempre estar ao seu lado e poder usufruir de todo seu amor, carinho e sua sabedoria.

Todo incentivo, apoio e orientação dada por vocês me fizeram chegar até aqui e foram fundamentais para que eu superasse as dificuldades encontradas ao longo do caminho. **Admiro muito vocês!**

## AGRADECIMENTOS

**Aos meus pais Sérgio e Annie**, meus maiores exemplos de vida, vida conduzida com honestidade, integridade e respeito ao próximo. Obrigada por todo amor, carinho e dedicação com que conduziram minha educação, o incentivo de vocês me faz ir cada vez mais longe. Agradeço por todo esforço de mesmo estando longe se fizerem tão presentes no meu dia-a-dia. Algumas vezes a distância torna-se insuportável, mas apenas algumas horas ao lado de vocês me dá forças para continuar no caminho que escolhi. Obrigada pelo apoio incondicional! **Ao meu irmão Nelson**, por todo incentivo e pelos inúmeros ensinamentos transmitidos no nosso cotidiano. Obrigada por toda atenção e carinho que sempre me dá. Amo muito vocês!

**Ao meu namorado Alexandre**, por todo carinho e amor que me dá, por dividir todos os momentos de alegria, tristeza e preocupação comigo, além dos sonhos e conquistas. Obrigada por me compreender tão bem e me apoiar sempre. Te amo!

**À tia Rosa e vó Celeste**, por todo incentivo, torcida, apoio, amor e carinho que me dão. Vocês contribuíram muito para minha educação e me ajudaram a superar limites.

**À tia Jussara e tio Marco Antônio**, pelo carinho com que me acolheram nesta cidade, por terem se tornado parte da minha família e serem hoje tão importantes na minha vida!

**Ao Prof. Edson Berbary**, pela colaboração e, principalmente, pela disposição em fazer a revisão cuidadosa deste trabalho com tanto carinho. Você é um verdadeiro mestre!

**À Jomara**, pela amizade, carinho e atenção que sempre me deu e pelo auxílio cuidadoso nas traduções dos meus trabalhos.

**Ao Prof. Muench**, por toda ajuda com a estatística deste trabalho, sua dedicação e disponibilidade à pesquisa são exemplos a serem seguidos.

**À Profa. Rosa**, pela competência e todo auxílio que tem me dado durante o curso de mestrado.

**Ao Prof. Rafael**, pelas dicas e pelo auxílio na impressão das imagens deste trabalho.

**À todos os professores do Departamento de Materiais Dentários**, pela convivência, amizade e aprendizado científico que me foi proporcionado.

**À Rosinha**, por sua paciência, carinho e disponibilidade. Seu auxílio foi fundamental em muitos momentos deste trabalho.

**Ao Antônio e ao Sílvio**, por toda ajuda que tem me dado ao longo desta pesquisa. Eu aprendi muitas coisas com vocês, seja nas conversas, explicações ou observando-os trabalhar. Muito obrigada!

**Agradeço ao Breno**, grande amigo e incentivador. Obrigado por ter compartilhado comigo inúmeros momentos de felicidade, brincadeira e muita diversão dentro e fora do departamento. Além de estar presente, ao meu lado, em outros momentos não tão bons. Você tem me ajudado a encarar as horas difíceis de uma forma mais tranquila e serena e a superar várias dificuldades.

**À Soraya**, por ter sido minha companheira de almoço e de MEV, por todas as palavras de carinho e incentivo. Obrigada também pelas dicas para o preparo das minhas amostras. Você está fazendo muita falta por aqui!

**Aos amigos Érika, Letícia, Tathy, Vini, Maurício, André, Maico, Flavinha, Andréa, Carol, Carina e Bárbara**, pelos inúmeros momentos alegres que passei



com cada um de vocês, pelas viagens, conversas, desabafos e por tudo que me ensinaram sobre pesquisa.

**Ao Laboratório de Caracterização Tecnológica** do Departamento de Minas e Petróleo da Escola Politécnica da USP, pela disponibilidade de uso do microscópio. Em especial, ao **Prof. Henrique e a Mariane**, por toda competência e auxílio cuidadoso dado à esta pesquisa.

**À Liz**, pelo carinho com que sempre me tratou, por toda competência, dedicação e cuidado que dispôs à este trabalho. As inúmeras horas que passamos juntas me fez ver a pessoa maravilhosa que você é, e me fez gostar cada vez mais do “mundo da microscopia”.

**Ao laboratório do Departamento de Dentística da FOU SP**. Em especial à **Profa. Miriam Turbino** pelo uso do laboratório para preparo das amostras de microscopia e à **Soninha** por todo auxílio dado.

**Ao CNPQ** pela bolsa de estudo concedida.

**Agradeço à todos aqueles que colaboraram no desenvolvimento deste trabalho.**

Pinheiro HB. Influência de cinco géis clareadores e de um gel remineralizante sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

## RESUMO

Objetivo: Avaliar, através de análise ultra-estrutural e teste de microdureza, a influência de um gel remineralizante e de cinco géis clareadores sobre o esmalte e a dentina de dentes humanos. Material e Método: 10 coroas de molares tiveram o terço oclusal e cervical removidos (5 coroas serviram para análise ultra-estrutural e 5 para ensaio de microdureza). Cada remanescente coronário foi seccionado em 7 fatias (análise ultra-estrutural) e 6 fatias (ensaio de dureza Knoop). Para análise ultra-estrutural, as fatias foram divididas entre 7 grupos (n=5), sendo um deles o grupo controle. Os outros 6 fragmentos foram divididos em 6 grupos experimentais de acordo com os materiais a serem aplicados em esmalte e dentina, sendo: 1 gel remineralizador, Relief ACP (Rel ACP); 2 géis clareadores convencionais, Opalescence PF (Opal) e Whiteness Perfect (WP); 2 géis contendo PO<sub>4</sub> e Ca, Nite White ACP (NW ACP) e Day White ACP (DW ACP) e um gel clareador contendo Ca, White Class Ca (WC Ca). Para o ensaio de microdureza, os 6 fragmentos foram divididos entre os 6 grupos experimentais acima, sendo que todos os fragmentos tiveram o seu valor inicial de dureza em esmalte (Ei) e dentina (Di) aferidos e, em seguida, os géis foram aplicados de acordo com instruções dos fabricantes. Os produtos foram aplicados por 14 dias, durante 30 minutos (grupo Rel ACP), 4h diárias (grupos NW ACP, Opal e WP) e por 1h diária (grupos DW ACP e WC Ca). Após cada sessão de tratamento remineralizador ou clareador, os espécimes foram armazenados em água destilada (37°C). Após 24h de finalizados os tratamentos, os espécimes foram preparados para análise em microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo e também foram determinados os valores finais de microdureza para esmalte (Ef) e dentina (Df). Resultados: Os clareadores

convencionais, assim como o clareador que continha apenas cálcio, causaram desmineralização no esmalte e na dentina e redução dos valores de dureza nesses dois tecidos (Opal:  $E_i=308,9$ ;  $E_f=278,5$ ;  $D_i=51,7$ ;  $DF=44,0$  / WP:  $E_i=316,8$ ;  $E_f=291,2$ ;  $D_i=50,3$ ;  $DF=34,8$  / WC Ca:  $E_i=315,7$ ;  $E_f=289,7$ ;  $D_i=52,1$ ;  $DF=44,8$ ) ( $p<0,05$ ). Já os clareadores que continham cálcio e fosfato (NW ACP e DW ACP) e o gel remineralizante (Rel ACP) não causaram desmineralização nem redução nos valores de dureza do esmalte e da dentina (NW ACP:  $E_i=313,8$ ;  $E_f=315,7$ ;  $D_i=51,7$ ;  $DF=48,2$  / DW ACP:  $E_i=320,7$ ;  $E_f=316,2$ ;  $D_i=53,7$ ;  $DF=52,6$  / Rel ACP:  $E_i=310,1$ ;  $E_f=314,8$ ;  $D_i=48,9$ ;  $DF=46,5$ ). Conclusão: O gel remineralizante (Rel ACP) e os agentes clareadores que contêm Ca e  $PO_4$  (NW ACP e DW ACP) não provocaram alterações na estrutura e nem na microdureza do esmalte e da dentina. Os géis clareadores convencionais (Opal e WP), assim como o gel clareador contendo apenas cálcio, WC Ca, promoveram alterações no esmalte e na dentina e redução dos valores de microdureza nos dois tecidos.

Palavras-chave: clareamento; esmalte; dentina; ultra-estrutural; microdureza

Pinheiro, HB. Influence of five bleaching gels and a remineralizing gel on the enamel and dentin ultrastructure and microhardness [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this in vitro study was to evaluate, through ultrastructural analysis and microhardness test, the influence of a remineralizing gel and five bleaching gels on enamel and dentin of human teeth. **Material and Method:** 10 third molars crowns had occlusal and cervical portions removed (5 crowns used for ultrastructural analysis and 5 for microhardness test). Each remaining coronary structure were cut in 7 slices (ultrastructural analysis) and 6 slices (Knoop hardness test). For ultrastructural analysis, the slices were divided into 6 groups (n=5), one being the control group. The other 6 slices were distributed into 6 experimental groups, one remineralizing gel, Relief ACP (Rel ACP); 2 conventional bleaching gels, Opalescence PF (Opal) and Whiteness Perfect (WP); 2 gels with Ca and PO<sub>4</sub>, Nite White ACP (NW ACP) and Day White ACP (DW ACP) and a bleaching gel with calcium, White Class Ca (WC Ca). After each session of remineralizing or bleaching treatment, the specimens were stored in distilled water (37° C). After 24 hours of completed treatments, the specimens were examined by field emission in-lens scanning electron microscopy (FEISEM) and then, final values were determined for enamel (Ef) and dentin (Df) microhardness. **Results:** The conventional bleaching gels and the bleaching gel with calcium, caused demineralization in enamel and dentin and reduce the hardness values of these two tissues (Opal: Ei=308,9; Ef=278,5; Di=51,7; DF=44,0 / WP: Ei=316,8; Ef=291,2; Di=50,3; DF=34,8 / WC Ca: Ei=315,7; Ef=289,7; Di=52,1; DF=44,8) (p <0.05). Already, the bleaching with calcium and phosphate (NW ACP and DW ACP) and the remineralizing gel (Rel ACP) did not cause demineralization or reduction in the enamel and dentin hardness values (NW ACP: Ei=313,8; Ef=315,7; Di=51,7; DF=48,2 / DW ACP: Ei=320,7; Ef=316,2; Di=53,7; DF=52,6 / Rel ACP: Ei=310,1; Ef=314,8; Di=48,9; DF=46,5). **Conclusion:**

The remineralizing gel (Rel ACP) and the bleaching agents with Ca and PO<sub>4</sub> (DW ACP and NW ACP) did not cause changes in the ultrastructure nor the enamel and dentin microhardness. The conventional bleaching gels (Opal and WP) and the bleaching gel with calcium, WC Ca, promoted changes in enamel and dentin and reduction of the microhardness values in the two tissues.

Keywords: bleaching; enamel; dentin; ultrastructure; microhardness

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1- Imagem do esmalte dental obtida neste estudo (aumento de 150.000x), observa-se o tamanho dos cristais que compõem os prismas (medida em nm) .....	27
Figura 4.1- Desenho esquemático de um molar ilustrando como foram realizados os cortes para obtenção dos espécimes.....	66
Figura 4.2- Espécimes embutidos em resina acrílica, lixados e polidos. ....	67
Figura 4.3- Gel aplicado na superfície de um espécime. ....	70
Figura 4.4- Organograma da análise microestrutural e do ensaio de microdureza Knoop. ....	71
Figura 4.5- Marca da penetração Knoop em dentina obtida no presente estudo. ....	75
Figura 4.6- Três indentações iniciais (esquerda) e três indentações finais (direita).....	76
Figura 5.1- Valor inicial e final do pH dos géis. ....	78
Figura 5.2- Esmalte controle, aumento de 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c). ....	84
Figura 5.3- Esmalte tratado com Relief ACP, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c). ....	84
Figura 5.4- Esmalte tratado com Nite White ACP, 10.000x (a), 50.000 (b) e 100.000x (c). ....	84
Figura 5.5- Esmalte tratado com Opalescence PF, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c).....	85
Figura 5.6- Esmalte tratado com Whiteness Perfect, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c).....	85
Figura 5.7- Esmalte tratado com Day White ACP, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c).....	85
Figura 5.8- Esmalte tratado com White Class Ca, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c).....	86
Figura 5.9- Dentina tubular do grupo controle, aumento de 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000x (c).....	86

Figura 5.10- Dentina intertubular do grupo controle, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c). .....	86
Figura 5.11- Dentina tubular tratada com Relief ACP, 10.000x (a), 20.000 (b) e 100.000x (c). .....	87
Figura 5.12- Dentina intertubular tratada com Relief ACP, 10.000x (a), 50.000 (b) e 100.000x (c). .....	87
Figura 5.13- Dentina tubular tratada com Nite White ACP, 10.000x (a), 20.000 (b) e 50.000x (c). .....	87
Figura 5.14- Dentina intertubular tratada com Nite White ACP, 10.000x (a), 50.000 (b) e 100.000x (c). .....	88
Figura 5.15- Dentina tubular tratada com Opalescence PF, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c). .....	88
Figura 5.16- Dentina intertubular tratada com Opalescence PF, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c). .....	88
Figura 5.17- Dentina tubular tratada com Whiteness Perfect, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c). .....	89
Figura 5.18- Dentina intertubular tratada com Whiteness Perfect, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c). .....	89
Figura 5.19- Dentina tubular tratada com Day White ACP, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c). .....	89
Figura 5.20- Dentina intertubular tratada com Day White ACP, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c). .....	90
Figura 5.21- Dentina tubular tratada com White Class Ca, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c). .....	90
Figura 5.22- Dentina intertubular tratada com White Class Ca, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c). .....	90
Figura 5.23- Exemplo de indentações obtidas em esmalte, aumento de 400x. ....	91
Figura 5.24- Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em esmalte, após aplicação dos diferentes géis. ....	92
Figura 5.25- Exemplo de indentações obtidas em dentina, aumento de 400x. ....	93
Figura 5.26- Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em dentina, após aplicação dos diferentes géis. ....	93

## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1- Grupos experimentais, imagem dos produtos, substâncias, fabricante e composição básica dos géis.....	67
Tabela 4.2- Grau das alterações no esmalte.....	74
Tabela 4.3- Grau das alterações da dentina tubular e intertubular .....	74
Tabela 5.1- Valores de pH dos géis em diferentes "tempos" .....	77
Tabela 5.2- Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a média dos postos das 7 condições experimentais em esmalte , realizadas ao nível de significância de 0,1%....	79
Tabela 5.3- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em esmalte .....	79
Tabela 5.4- Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a média dos postos das 7 condições experimentais em dentina tubular, realizadas ao nível de significância de 0,1%.....	80
Tabela 5.5- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em dentina tubular .....	81
Tabela 5.6- Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a média dos postos das 7 condições experimentais em dentina intertubular, realizadas ao nível de significância de 0,1%.....	82
Tabela 5.7- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em dentina intertubular .....	82
Tabela 5.8- Média e desvio-padrão inicial e final dos valores de microdureza Knoop (KHN) para o esmalte e probabilidade de KHN ( $p$ KHN).....	92
Tabela 5.9- Média e desvio-padrão inicial e final dos valores de microdureza Knoop (KHN) para a dentina e probabilidade de KHN ( $p$ KHN).....	93



# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>20</b>
2.1	Clareamento na Odontologia	20
2.2	Considerações sobre o esmalte e a dentina humanos	25
2.2.1	Esmalte	25
2.2.2	Dentina	30
2.3	Interação dos clareadores com a estrutura dental	33
2.4	Alteração de cor da estrutura dental	34
2.5	Mecanismo de ação dos agentes clareadores	36
2.6	Substâncias utilizadas para minimizar os efeitos adversos causados pelo tratamento clareador	40
2.7	Métodos para estudar os efeitos dos clareadores na estrutura dental	47
2.7.1	Análise por meio de microscopia	47
2.7.2	Teste de microdureza	55
2.7.3	Análise química	59
2.7.4	Outros tipos de análise	61
<b>3</b>	<b>PROPOSIÇÃO</b>	<b>64</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>65</b>
4.1	Seleção dos dentes e preparo dos espécimes	65
4.2	Medição de pH dos géis	69
4.3	Aplicação dos géis	69
4.4	Análise ultra-estrutural	72
4.4.1	Preparo dos espécimes para análise ultra-estrutural	72
4.5	Teste de microdureza	75
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>77</b>
5.2	Análise ultra-estrutural	78
5.2.1	Esmalte controle	84
5.2.2	Esmalte tratado com Relief ACP	84
5.2.3	Esmalte tratado com Nite White ACP	84
5.2.4	Esmalte tratado com Opalescence PF	85
5.2.5	Esmalte tratado com Whiteness Perfect	85
5.2.6	Esmalte tratado com Day White ACP	85
5.2.7	Esmalte tratado com White Class Ca	86
5.2.8	Dentina tubular controle	86
5.2.9	Dentina intertubular controle	86
5.2.10	Dentina tubular tratada com Relief ACP	87
5.2.11	Dentina intertubular tratada com Relief ACP	87
5.2.12	Dentina tubular tratada com Nite White ACP	87
5.2.13	Dentina intertubular tratada com Nite White ACP	88
5.2.14	Dentina tubular tratada com Opalescence PF	88
5.2.15	Dentina intertubular tratada com Opalescence PF	88
5.2.16	Dentina tubular tratada com Whiteness Perfect	89
5.2.17	Dentina intertubular tratada com Whiteness Perfect	89

5.2.18 Dentina tubular tratada com Day White ACP .....	89
5.2.19 Dentina intertubular tratada com Day White ACP .....	90
5.2.20 Dentina tubular tratada com White Class Ca .....	90
5.2.21 Dentina intertubular tratada com White Class Ca .....	90
<b>5.3 Microdureza Knoop .....</b>	<b>91</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>94</b>
6.1 Análise ultra-estrutural do esmalte.....	100
6.2 Análise ultra-estrutural da dentina .....	106
6.3 Microdureza do esmalte e da dentina.....	111
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>115</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>117</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>129</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O clareamento caseiro, utilizando peróxido de carbamida ou hidrogênio em baixas concentrações, tornou-se uma técnica muito difundida devido a sua eficácia, praticidade e, principalmente, à segurança em relação às antigas técnicas clareadoras de consultório<sup>(1)</sup>. Entretanto, mesmo com a utilização de baixas concentrações de peróxido, vários estudos reportam alterações na estrutura dental clareada<sup>(2-6)</sup>.

Existem divergências quanto ao grau dos efeitos adversos causados pelo clareamento em dentes vitais<sup>(7)</sup>. Embora alguns trabalhos não tenham encontrado alterações superficiais significativas em dentes clareados<sup>(8-12)</sup>, a maioria dos estudos *in vitro* e *in situ* tem relatado alterações nos tecidos dentários mineralizados após o uso de géis clareadores à base de peróxido de carbamida e hidrogênio<sup>(2, 4, 12-27)</sup>.

Dentre as alterações, a literatura destaca, mudanças no conteúdo mineral de dentes clareados<sup>(16, 22, 28-34)</sup>, que podem gerar: aumento da porosidade<sup>(14, 15, 19, 30, 33, 35)</sup> e permeabilidade do esmalte<sup>(26)</sup>, diminuição da microdureza do esmalte<sup>(36)</sup> e da dentina<sup>(2, 37)</sup>, diminuição da resistência adesiva pós-clareamento<sup>(38, 39)</sup> e sensibilidade dentinária trans e pós-operatória<sup>(4, 24, 25, 40-43)</sup>.

Independentemente do tipo de peróxido usado, sempre deve haver o cuidado de se garantir a preservação da estrutura dental clareada. Aliás, essa tônica também está presente na odontologia atual, que tem valorizado os procedimentos restauradores estéticos que conservam ao máximo a estrutura dental sadia. Cada vez mais a preservação de esmalte e dentina tem refletido no lançamento de novos produtos e/ou técnicas<sup>(44)</sup>. Nesse sentido, é pertinente a minuciosa observação de

possíveis danos às estruturas dentais clareadas, assim como alternativas para evitá-los.

Na tentativa de evitar ou minimizar os efeitos indesejáveis que podem ocorrer na estrutura dental clareada, surgiram no mercado odontológico produtos com algumas substâncias na composição, como nitrato de potássio e flúor. Recentemente, surgiram géis clareadores com fosfato e cálcio na composição, ou apenas cálcio. Segundo os fabricantes, a inclusão dessas substâncias tem como objetivo dar aporte mineral à estrutura dental clareada, evitando o surgimento de porosidades e erosões, além de contribuir para a redução de sensibilidade trans e pós-operatória, através da diminuição da permeabilidade do esmalte, inibição da ativação neural e/ou obliteração de túbulos dentinários expostos e abertos<sup>(45)</sup>.

Existem várias pesquisas *in vitro*<sup>(5, 8, 10, 18, 19, 29, 46-50)</sup>, *in situ*<sup>(3, 51)</sup> e *in vivo*<sup>(40, 52-56)</sup> que mostram a influência de inúmeros agentes clareadores convencionais (com nitrato de potássio e flúor na composição) sobre estrutura dental. Contudo, por ser uma abordagem recente da indústria odontológica, a associação de fosfato e cálcio a géis clareadores foi muito pouco estudada. Os trabalhos existentes analisaram a eficácia clínica da adição de fosfato e cálcio a um gel clareador, em relação à cor obtida, estabilidade de cor, toxicidade do gel e sensibilidade trans e pós tratamento clareador. Não existem estudos *in vitro* que mostrem a influência desse tipo de agente clareador sobre a estrutura e microdureza do esmalte e da dentina como é proposto na presente pesquisa.

Foi lançado, muito recentemente no mercado, um gel clareador com cálcio adicionado a sua composição. Segundo o fabricante, a adição dessa substância conseguiria minimizar o processo de desmineralização provocado pelo clareamento dental e contribuir para que a redução de microdureza do esmalte clareado seja

minimizada. Porém ainda não existem estudos na literatura a respeito deste gel clareador.

Dessa forma, a presente pesquisa foi desenvolvida com intuito de investigar os efeitos (em esmalte e dentina) da adição de fosfato e cálcio a dois géis clareadores, bem como a adição de apenas cálcio a um gel clareador e comparar os resultados aos obtidos com outros dois géis convencionais, que têm apenas a adição de flúor e nitrato de potássio na composição. Buscou-se analisar também, neste estudo, os efeitos do uso de um gel remineralizante à base de fosfato e cálcio sobre o esmalte e a dentina.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Clareamento na Odontologia

Os primeiros relatos científicos sobre clareamento dental datam de 1850, quando Dwinelle<sup>(57)</sup> publicou no “American Journal of Dental Science” um método para restaurar a cor natural de dentes não-vitais. Tal método foi descoberto acidentalmente por ele, quando tentava tratar abscessos e fístulas abertas. Dwinelle limpava o conduto radicular com uma solução à base de cânfora, colocava solução de cal dentro do conduto e selava-o com cera. Em seguida, fazia uma pequena raspagem na superfície interna do conduto e trocava sucessivas vezes a solução de cal. Depois introduzia soda clorada alternando-a com cal clorado. Após esse processo, o dente era restaurado com ouro.

Em meados do século XIX, foi proposto apenas o uso de soda clorada, chamada de líquido de Labarraque, para clarear dentes não-vitais<sup>(58)</sup>. Nessa mesma época, foi recomendado o uso de creosoto para o mesmo fim<sup>(59)</sup>.

Ainda no século XIX, foi escrito um artigo que apresentava várias substâncias clareadoras. Dentre elas, destacavam-se: ácido sulfúrico, cloreto e cianeto de potássio. O autor chamava atenção para o fato de que a maioria dos pigmentos contém carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, e para mudar sua cor seria necessária a remoção desses elementos ou, ainda, que suas porções fossem

modificadas. Os pigmentos poderiam ser decompostos por alguns agentes que tivessem afinidade por um ou mais elementos que o constituíssem<sup>(60)</sup>.

Cinquenta anos mais tarde, foi apresentada uma técnica de clareamento dental em que se utilizava Peridrol, uma solução concentrada de peróxido de hidrogênio. A concentração dessa solução dependia do tipo de tratamento clareador a ser realizado. Dessa forma, para clarear dentes despulpados, utilizava-se Peridrol a 30% e para dentes vitais Peridrol a 10%<sup>(61)</sup>.

Duas décadas depois, Ames escreveu um artigo sobre a remoção de manchas em esmalte provocadas por fluorose. O autor relatou que as manchas poderiam ser causadas pela ingestão excessiva de fluoretos durante o período de calcificação dentária e que elas poderiam ser removidas pela técnica por ele preconizada. Tal técnica consistia no emprego de uma mistura de cinco partes de peróxido de hidrogênio a 100% com uma parte de éter, em volume. Essa mistura era aplicada na estrutura dental após a instalação do isolamento absoluto. Para acelerar o processo clareador, Ames utilizava um instrumento aquecido por um tempo que variava de 30 minutos a uma hora<sup>(62)</sup>.

Na década de 60, o ortodontista Bill Klusmier prescrevia, para os pacientes que apresentavam gengivite, o uso de um antisséptico bucal à base de peróxido de carbamida a 10%, dentro de um dispositivo ortodôntico semelhante a um protetor esportivo. Além de observar a redução do quadro inflamatório gengival, ele também constatou um efeito adverso, o clareamento dental. Isso ficou esquecido por duas décadas, quando Haywood & Heymann descreveram com detalhes a técnica do clareamento dental caseiro com peróxido de carbamida a 10%<sup>(63)</sup>.

Em 1988, a FDA (Food and Drugs Administration) classificou tanto o peróxido de carbamida a 10% como o peróxido de hidrogênio de 1,5 a 3% como antissépticos

orais, pois eles eram usados inicialmente como anti-inflamatórios nas grandes guerras para tratar doença periodontal, mais especificamente a gengivite ulcerativa necrosante aguda (GUNA).

No final dos anos 90, Haywood e Haymann escreveram um artigo onde ressaltaram algumas desvantagens do tratamento clareador de consultório para dentes vitais à base de peróxido de hidrogênio, como grande número de passos técnicos, existência de efeitos colaterais como a sensibilidade dental, necessidade do uso de isolamento absoluto e maior custo para o paciente. Então propuseram uma alternativa à técnica de clareamento dental de consultório, o clareamento caseiro supervisionado. Essa técnica seria aparentemente segura e efetiva, pois não necessitaria de condicionamento ácido prévio ao tratamento clareador, nem polimento pós-tratamento. Consistia, primeiramente, no registro da cor dos dentes do paciente, com uma escala de cores padronizada e poderiam ser tiradas fotografias para uma futura comparação. As arcadas superior e inferior eram moldadas com alginato e os moldes vazados com gesso para posterior obtenção de um modelo. Sobre este, era confeccionada uma moldeira plástica através de uma máquina a vácuo. Os pacientes eram instruídos a, antes de dormir à noite, escovar os dentes e passar fio dental, posteriormente, deveriam colocar o gel clareador à base de peróxido de carbamida a 10% dentro da moldeira individual e dormir com esse dispositivo por, aproximadamente, 2 a 5 semanas. Os autores observaram alguns problemas decorrentes desse tratamento, tais como: suave irritação gengival, leve sensibilidade a variações térmicas e pequeno desconforto logo após a retirada da moldeira. Os problemas desapareceriam durante a segunda semana de tratamento. Os autores concluíram que a técnica de clareamento caseiro era conservadora e deveria ser a primeira escolha para clarear dentes vitais levemente



manchados, porém ressaltaram que deveriam ser realizadas mais pesquisas sobre tal técnica<sup>(63)</sup>.

O grande "boom" do clareamento dental deu-se no começo da década de 90 após a publicação do artigo citado acima quando, através de um marketing mais agressivo, surgiu um grande mercado para os dentistas e para as indústrias de materiais odontológicos, facilitando a realização do clareamento tanto em consultório, como também em casa, devido à evolução e diversidade dos materiais para essa finalidade<sup>(64)</sup>.

Atualmente, pode-se encontrar na literatura vários métodos para clarear dentes vitais<sup>(1, 4, 5, 14, 65, 66)</sup>. Esses métodos variam em virtude da grande diversidade de agentes clareadores encontrados no mercado, das diferentes concentrações existentes, do tempo e modo de aplicação, da apresentação do produto e forma de ativação<sup>(65)</sup>.

Existem três principais abordagens para o clareamento de dentes vitais: clareamento caseiro supervisionado pelo dentista, clareamento de consultório ou "power bleaching" e clareamento feito com produtos vendidos em farmácias, supermercados e aplicados pelo próprio paciente sem supervisão do dentista<sup>(34, 67)</sup>.

No clareamento caseiro supervisionado, geralmente são usados produtos com baixa concentração de peróxido de carbamida, o que corresponde a aproximadamente 1/3 da concentração de peróxido de hidrogênio. O produto é aplicado dentro de moldeiras customizadas e utilizado por pelo menos duas semanas<sup>(68)</sup>. No clareamento de consultório, são utilizados produtos com concentração mais alta e por menos tempo, por exemplo, peróxido de hidrogênio de 25 a 35% ou peróxido de carbamida a 35%. Nessa técnica, o gel é aplicado após proteção dos tecidos moles e o agente clareador pode ser ativado por luz ou calor.

Os produtos vendidos em farmácias e supermercados normalmente apresentam concentração de peróxido de hidrogênio abaixo de 10%. Esses clareadores geralmente requerem duas aplicações diárias por mais de duas semanas e podem ser encontrados em diversas formas, como gomas de mascar, tiras, produtos no formato “paint-on”, dentifrícios, fio dental, entre outros<sup>(24, 65)</sup>.

Independente do tipo de técnica a ser utilizada, a sensibilidade dental trans e pós-clareamento é o efeito adverso mais reportado na literatura. É relatado através de vários estudos clínicos, apresentando várias incidências<sup>(8, 25, 40, 41, 55, 68-70)</sup>. Para alguns autores<sup>(20)</sup>, a maioria dos agentes clareadores apresenta baixo pH e, com isso, causam desmineralização da estrutura dental. Os clareadores com baixo pH têm sido apontados como possíveis causadores de sensibilidade em função da remoção de minerais do dente num ambiente com pH abaixo de 5,5<sup>(71)</sup>.

A partir desta problemática, o mercado odontológico tem investido cada vez mais em produtos clareadores que contenham em suas fórmulas agentes dessensibilizantes, como o flúor e o nitrato de potássio<sup>(72)</sup>. Atualmente, surgiu no mercado odontológico outra substância, o fosfato de cálcio amorfo, que além de agir como dessensibilizante, minimizaria ou até mesmo evitaria a perda de minerais decorrente do tratamento clareador<sup>(52, 56)</sup>. No entanto, pouco se conhece sobre a interação dessa substância com a estrutura dental.

Mais recentemente, foi lançado um gel clareador que contém gluconato de cálcio na sua composição. Segundo o fabricante, a presença dessa substância contribui para minimizar a redução de microdureza do esmalte dental clareado e diminuir a desmineralização provocada por esse tratamento. Contudo, por ser um produto recém lançado no mercado odontológico, ainda não existem pesquisas disponíveis na literatura a seu respeito.

Para melhor compreensão do mecanismo de ação dos agentes clareadores e dos efeitos adversos que podem provocar na estrutura dental, torna-se necessário conhecer os aspectos químicos e morfológicos dessa estrutura.

## **2.2 Considerações sobre o esmalte e a dentina humanos**

O conhecimento dos aspectos morfológicos e de composição do esmalte e da dentina são de fundamental importância para o estudo e análise das alterações da estrutura dental submetida à aplicação de qualquer produto que se pretenda estudar. Desta forma, serão feitas considerações sobre essas duas estruturas que estão intimamente ligadas ao processo de clareamento dental e aos fenômenos de desmineralização e remineralização.

### **2.2.1 Esmalte**

O esmalte dental é a substância mais dura e mineralizada do nosso corpo<sup>(73)</sup>. Quando totalmente formado e após a erupção do dente, é o único tecido mineralizado completamente acelular, isto é, não mantém relação com as células que o formam<sup>(74)</sup>.

A espessura do esmalte varia de acordo com cada dente e com as regiões de um dente. Em geral, ela decresce desde a ponta da cúspide até a região cervical. O esmalte é mais espesso nas faces vestibular e mesial. Nas cúspides dos molares e pré-molares, o esmalte apresenta espessura máxima em torno de 2 a 3 mm<sup>(75, 76)</sup>.

A extrema dureza do esmalte (entre 3,1 e 4,7 GPa para dentes permanentes)<sup>(75)</sup> deve-se ao seu alto conteúdo inorgânico, representado por cristais de fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatita, com quantidades de carbonato, sódio, magnésio, cloreto, potássio e flúor, envoltos por material orgânico de natureza basicamente protéica, com escassos carboidratos e lipídios, e por água<sup>(74)</sup>.

A grande quantidade de minerais no esmalte explica não somente seu alto valor de dureza, mas também sua friabilidade. Por esse motivo, a dentina subjacente, um tecido menos mineralizado e mais resiliente, confere sustentação ao esmalte. Ao contrário da dentina e do osso, o esmalte não contém colágeno. Em vez disso, possui proteínas, como amelogeninas, enamelinas, amelinas, tufelinas e parvalbuminas<sup>(75)</sup>. Acredita-se que essas proteínas ajudem no desenvolvimento do esmalte e servem como uma sustentação da estrutura<sup>(77)</sup>.

Imediatamente antes da erupção do dente, o esmalte já atingiu sua composição final, em peso, de aproximadamente 95% de mineral e 5% de material orgânico e água. O mineral do esmalte é a apatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ), constituída, em peso, por 37% de cálcio, 52% de fosfato e 3% de hidroxila<sup>(78)</sup>.

A unidade estrutural básica do esmalte é constituída pelos prismas do esmalte que, por sua vez, são estruturas compostas por cristais de hidroxiapatita firmemente ligados. O número de prismas existentes no esmalte de um dente varia em relação ao tamanho da coroa dental, sendo estimado entre 5 e 12 milhões<sup>(75)</sup>.

Na superfície externa da coroa dental e na junção amelo-dentinária, existe o denominado esmalte aprismático, em que a estrutura não se configura nem forma prismas<sup>(75)</sup>. Já no esmalte prismático, os prismas são formados por cristais densamente reunidos e organizados em bastonetes que se estendem desde a junção amelo-dentinária (JAD) até a superfície do esmalte<sup>(73)</sup>.

Os cristais de hidroxiapatita têm aspecto de barras hexagonais de 20 a 60 nm de altura, 30 a 90 nm de largura<sup>(74)</sup>, e comprimento bastante variável que vai de 100 a 1.000 nm<sup>(75)</sup>, como pode ser observado na figura 1. Cada cristal é separado dos seus vizinhos por pequenos espaços inter cristalinos (2-3 nm), preenchidos por água e proteínas<sup>(75)</sup>. Esses espaços formam uma fina rede de vias de difusão, denominados poros do esmalte. Através desses poros ocorre o transporte de íons pela estrutura do esmalte. A camada de água que circunda cada cristal (película de hidratação) está firmemente ligada e não evapora, mesmo quando o esmalte é aquecido a 100°C. Porém, através do aquecimento do esmalte a 600°C por longos períodos, ela pode ser removida<sup>(78)</sup>. Cada prisma do esmalte é produto de um ameloblasto que ele deixou como um traço petrificado de seu movimento<sup>(79)</sup>.

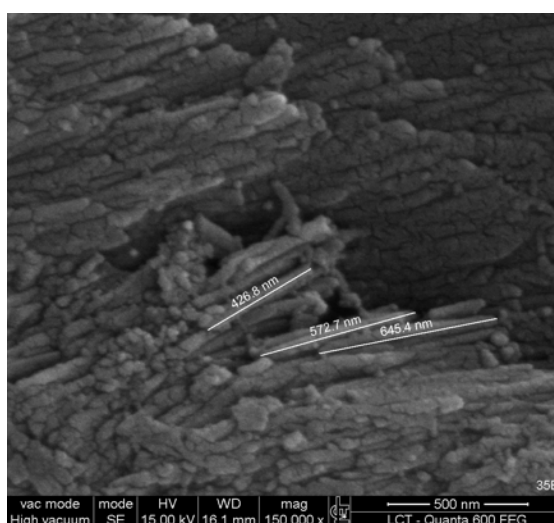


Figura 2.1- Imagem do esmalte dental obtida neste estudo (aumento de 150.000x), observa-se o tamanho dos cristais que compõe os prismas (medida em nm)

Os prismas de esmalte podem ser observados em imagens obtidas através de microscopia eletrônica de varredura, tanto em cortes longitudinais, quanto em cortes transversais. Com os cortes longitudinais, são observados bastões irregularmente paralelos e, nos transversais, uma morfologia semelhante a um buraco de fechadura de chave antiga<sup>(75)</sup>.

Estudos mostram que o esmalte dentário maduro na época da irrupção exibe uma grande variação regional quanto ao aspecto morfológico de sua superfície. A presença das estrias de Retzius, buracos focais, fissuras e outras irregularidades contendo proteínas de origem desenvolvimental, juntamente com os espaços intercrystalinos, atuam como caminhos para difusão de diversas substâncias através do esmalte<sup>(80)</sup>.

Esses caminhos de difusão permitem que o esmalte atue como uma membrana semi-permeável, permitindo a difusão de água e de alguns íons<sup>(75)</sup>.

Com a idade, o esmalte vai tornando-se menos permeável, à medida em que os poros vão diminuindo através da aquisição de íons pelos cristais<sup>(42)</sup>. Por conter poros, o esmalte superficial vai adquirindo íons, como o flúor que substitui grupamentos de hidroxila do cristal de apatita, tornando-o menos solúvel aos ácidos<sup>(75)</sup>. Os dentes de pacientes na faixa dos 20 anos de idade apresentam-se duas vezes mais permeáveis que nos pacientes com idade entre 40 e 60 anos<sup>(77)</sup>.

As apatitas dentais resistem de forma diferente às variações de pH na cavidade bucal. Desta forma, cada uma delas tem sua dissolução ácida iniciada em diferentes pH. Para a hidroxiapatita, principal componente das estruturas dentais, o pH crítico é 5,5. Já, para a fluorapatita (mineral presente principalmente na superfície do esmalte), a dissolução inicia-se em pH inferior a 4,5<sup>(44)</sup>. Assim, quando a cavidade bucal atinge um pH menor que 5,5, a composição da saliva em cálcio x

fosfato torna-se inferior (subsaturante) em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatita, e, então a tendência físico-química é o esmalte perder cálcio e fosfato para o meio bucal, tentando atingir o novo estado de equilíbrio em função do pH atingido<sup>(81)</sup>. Toda vez que o pH crítico for alcançado, ocorrerá saída de íons, como cálcio e fosfato, dos cristais de apatita. Isso irá caracterizar um processo chamado de desmineralização dental. O retorno do pH e da saturação da saliva aos níveis fisiológicos acontece à custa de perda de minerais pelos dentes e pela ação do fluxo salivar responsável por remover as substâncias ácidas e trazer sais minerais e substâncias tamponantes<sup>(44)</sup>.

Depois do retorno do pH ao normal, são restabelecidas novamente na cavidade bucal condições físico-químicas supersaturantes, e, assim, a tendência é o esmalte ganhar cálcio e fosfato do meio bucal tentando repor o perdido pelo processo de desmineralização. Se esse fenômeno for efetivo, levará ao que se chamada de remineralização do esmalte<sup>(81)</sup>. O processo de remineralização depende também do grau de supersaturação do cálcio e do fosfato na saliva e da presença de núcleos cristalinos os quais os minerais possam se precipitar<sup>(44)</sup>.

A presença de flúor na cavidade oral pode ajudar na aceleração do processo de remineralização, pois na presença desse íon não há necessidade de esperar a recuperação do pH para que comece a haver precipitação de fosfato e cálcio na estrutura dental, devido ao flúor ser ainda mais reativo com o cálcio em pH baixos, ou seja, em um pH 4 haverá maior formação de fluoreto de cálcio do que em um pH 7,0. Em geral, a dentina e o esmalte de dentes recém-erupcionados são mais reativos ao flúor do que o esmalte maduro, devido à maior disponibilidade de fosfato de cálcio amorfo. Todavia nem sempre há na saliva uma boa disponibilidade de cálcio e fosfato para que o flúor possa cumprir as suas funções<sup>(44)</sup>.

Desta forma, têm-se desenvolvido produtos com a intenção de fornecer cálcio e fosfato, além do fluoreto, de tal forma a otimizar os processos remineralizadores. No entanto existe um fator limitante, que é o tempo decorrido entre o momento que esses íons foram aplicados na boca e o momento da introdução do ácido, quando então serão necessários e em geral já não estão mais disponíveis<sup>(44)</sup>.

### 2.2.2 Dentina

A dentina é um tecido mineralizado de natureza conjuntiva que constitui a maior parte da estrutura dental. É recoberta pelo esmalte na porção coronária e pelo cimento na porção radicular<sup>(82)</sup>. Em molares, a espessura média da dentina é em torno de 3 mm<sup>(83)</sup>.

É um tecido parcialmente mineralizado, composto principalmente por cristais de hidroxiapatita pobres em cálcio e ricos em carbonato (apatita carbonatada), envoltos por uma matriz de colágeno<sup>(82)</sup>, principalmente do tipo I<sup>(79, 84)</sup>. O processo de desmineralização e remineralização desse substrato ocorre da mesma maneira descrita para o esmalte. Contudo, por ser rica em apatita carbonatada, seu pH crítico é em torno de 6,5, o que se torna preocupante onde existem áreas de dentina exposta, como em regiões com recessões gengivais e nas lesões não cariosas<sup>(44)</sup>.

Os cristais de hidroxiapatita encontrados no esmalte são maiores que os encontrados em dentina que, por sua vez, são pequenos e delgados. Os cristais da dentina têm aproximadamente 36 nm de comprimento, 25 nm de largura e 10 nm de



altura e estão orientados paralelamente em relação às fibras colágenas da matriz dentinária, dispendo-se entre as fibras e também dentro delas<sup>(83)</sup>.

A composição química da dentina em peso é de aproximadamente 70% de conteúdo mineral, 18% de material orgânico e 12% de água e varia de acordo com a idade dentária, devido ao seu crescimento ser aposicional<sup>(82)</sup>. Por ter menor grau de mineralização que o esmalte, a dentina possui menores valores de microdureza, que variam entre 0,57 e 1,13 GPa em dentes permanentes<sup>(77)</sup>.

Histologicamente, a dentina é constituída por duas unidades estruturais básicas: a dentina peritubular e a dentina intertubular.

A dentina peritubular forma a parede dos túbulos dentinários e é constituída por uma matriz mineralizada com menor quantidade de colágeno quando comparada à dentina intertubular. Essa estrutura é depositada de forma centrípeta em relação ao túbulo dentinário, de maneira lenta e gradual, e, com a idade, pode chegar a obliterar parcial ou totalmente os túbulos dentinários<sup>(83)</sup>.

Estudos recentes mostram que a espessura média da dentina peritubular próximo à polpa é 400 nm e próximo à JAD (junção amelo-dentinária) é 750 nm<sup>(85)</sup>. Por isso o diâmetro interno dos túbulos é superior a 2,5  $\mu\text{m}$  na região profunda da dentina e em torno 0,8  $\mu\text{m}$  na região próxima à JAD. Esta característica histológica determina o índice de permeabilidade dentinária, que é maior próximo à polpa e aos cornos pulpare<sup>(83)</sup>.

A dentina possui maior permeabilidade do que o esmalte devido à presença dos túbulos dentinários. Eles permitem o transporte relativamente fácil de diversos elementos ou soluções por difusão<sup>(83)</sup>.

Os túbulos dentinários são estruturas cilíndricas que se estendem desde a polpa até a junção amelodentinária ou cementodentinária<sup>(86)</sup>. Acredita-se que sua

extensão oscile em média entre 1,5 e 2 mm. Nas regiões próximas à polpa, existem aproximadamente 45.000 a 60.000 túbulos por  $\text{mm}^2$  e próximo à JAD 15.000 a 20.000 túbulos por  $\text{mm}^2$ <sup>(82)</sup>.

Os túbulos alojam em seu interior prolongamentos de células especializadas (odontoblastos)<sup>(87)</sup> e entre a parede do túbulo (dentina peritubular) e o prolongamento da célula existe um espaço pericitoplasmático, ocupado pelo fluido dentinário. O processo odontoblástico e o fluido dentinário são responsáveis pela vitalidade desse tecido. Na dentina, os prolongamentos odontoblásticos juntamente com suas ramificações laterais compreendem não menos que 30% do volume deste tecido<sup>(79)</sup>. O espaço pericitoplasmático permite que o fluido dentinário se difunda bidirecionalmente, utilizando essa via para nutrir a dentina periférica, conduzir estímulos e diversas substâncias até a polpa<sup>(83)</sup>.

A dentina intertubular distribui-se entre as paredes dos túbulos dentinários e é menos mineralizada que a dentina peritubular. É constituída fundamentalmente por fibras colágenas que formam uma trama fibrilar onde são depositados cristais de hidroxiapatita semelhantes aos existentes na dentina peritubular<sup>(76)</sup>.

Como a dentina tem uma grande interligação estrutural e funcional com a polpa, tem sido tratada como complexo dentino-pulpar<sup>(82)</sup>. Essa interligação é reforçada por Brännström através da elaboração da teoria hidrodinâmica que explica o fenômeno da sensibilidade dentinária. Segundo essa teoria, vários estímulos como desidratação, frio, toque ou pressão osmótica podem despertar uma resposta dolorosa em pacientes com dentina exposta e túbulos dentinários abertos ao meio bucal. A sensação dolorosa ocorreria devido à rápida movimentação do fluido dentinário dentro dos túbulos, causada pela retração dos processos odontoblásticos devido aos estímulos citados acima<sup>(88)</sup>.

### 2.3 Interação dos clareadores com a estrutura dental

Como a dentina e o esmalte são estruturas permeáveis ou semi-permeáveis, o peróxido de hidrogênio, por ter baixo peso molecular, é capaz de difundir-se livremente através dessas estruturas<sup>(26, 89, 90)</sup>. Com isso, desde que substâncias clareadoras transitem livremente pelo esmalte e pela dentina<sup>(91, 92)</sup>, é concebível que alterações na superfície e subsuperfície do esmalte dental possam ocorrer<sup>(50)</sup>.

Os agentes clareadores podem provocar várias alterações na estrutura dental, dentre elas: aumento de porosidade no esmalte<sup>(15, 19, 37, 93)</sup>, aumento da permeabilidade do esmalte<sup>(26)</sup>, diminuição dos valores de microdureza tanto em esmalte quanto em dentina<sup>(36, 37)</sup> e mudanças no conteúdo mineral<sup>(16, 22, 29-31, 94)</sup>. Essas alterações podem caracterizar um processo químico de dissolução da porção mineralizada dos dentes, responsável pela perda de estrutura dental, chamado de erosão.

Esse processo é desencadeado por agentes desmineralizantes, principalmente ácidos de origem não-bacteriana e por substâncias com propriedades quelantes. Os agentes são responsáveis pelo processo de desmineralização, já que provocam alterações na superfície dental por meio da retirada de minerais, e, com isso, enfraquecem a estrutura dental que, por sua vez, fica suscetível a desgastes mecânicos provocados tanto pela escovação, como pelo simples ato de fricção dos alimentos e tecidos moles bucais contra os dentes<sup>(44)</sup>.

Sob condições fisiológicas, a saliva e os fluidos orais são supersaturados em relação à hidroxiapatita e hidroxiapatita fluoretada. Essa é a pré-condição necessária para a existência de apatita na boca. A supersaturação em relação às apatitas deve

levar ao depósito de minerais em áreas porosas nos dentes, tal como observado durante a maturação do esmalte ou durante a remineralização de lesões cariosas. Quando o pH do meio circundante diminui, a solubilidade da apatita dental aumenta consideravelmente e, assim, dá-se início à desmineralização<sup>(77)</sup>.

À medida em que a desmineralização é iniciada, ocorre o aumento dos espaços intercrystalinos que contribuem para o aumento geral da porosidade na área. Quando os poros de esmalte aumentam de tamanho, tanto os agentes desmineralizantes quanto os remineralizantes têm sua penetração facilitada. A estrutura porosa que se forma pela ação dos agentes desmineralizantes pode, nas fases iniciais, ser preenchida por cálcio e fosfato existentes na cavidade oral. O processo de desmineralização só será irreversível se algum episódio abrasivo remover a camada porosa do esmalte antes de ocorrer sua remineralização<sup>(44)</sup>.

## **2.4 Alteração de cor da estrutura dental**

Quando uma molécula é capaz de absorver, transmitir e refletir comprimentos de onda de luz visível, tem-se a percepção da cor. A região molecular responsável pela absorção da luz recebe o nome de grupo cromóforo, ou simplesmente cromóforo<sup>(95)</sup>.

O processo de escurecimento dental ocorre devido à formação de estruturas quimicamente estáveis e tipicamente orgânicas que constituem um sistema conjugado com longas cadeias de ligações alternadas simples e duplas ou insaturadas<sup>(64)</sup> e, freqüentemente, tem anéis de heteroátomos, carbonil e fenil

inclusos<sup>(65)</sup>. A presença de ligações insaturadas e anéis de heteroátomos, carbonil e fenil na estrutura dental aumentam o índice de absorção de luz, fazendo com que o dente pareça mais escuro<sup>(7, 96, 97)</sup>.

As alterações de cor da estrutura dental são decorrentes de fatores intrínsecos e extrínsecos, de acordo com a origem do cromóforo. Após atração molecular, os cromóforos extrínsecos depositam-se sobre a superfície dental e película adquirida e podem difundir-se através dela, ao passo que os intrínsecos são incorporados à estrutura dental. A presença dos dois fatores também é possível<sup>(39)</sup>. As alterações extrínsecas podem ser decorrentes de várias substâncias que contenham corantes em sua composição, tais como refrigerante, café, vinho tinto, chocolate e ainda alguns legumes e verduras<sup>(98, 99)</sup>.

As manchas extrínsecas são resultado de uma complexa interação física e química entre a substância causadora da mancha e a estrutura dental. Existem vários tipos de força de atração entre as diferentes substâncias e o dente. Nas interações de longo alcance, tem-se como exemplo as forças eletrostáticas e de Van der Waals; e nas de curto alcance, forças dipolo-dipolo e pontes de hidrogênio. Essas interações permitem que o cromóforo ou pré-cromóforo fique em contato com a estrutura dental e determine se ocorrerá adesão nesse local. A força de adesão do cromóforo varia com o material e os mecanismos que a determinam ainda não estão esclarecidos na literatura<sup>(100)</sup>.

## 2.5 Mecanismo de ação dos agentes clareadores

No final do século XIX, foi descrito o possível mecanismo de ação dos agentes clareadores. O autor afirmou que o sucesso do tratamento se dava pela “quebra” dos pigmentos através da ação de alguns agentes químicos suficientemente ativos para promover o clareamento dental<sup>(101)</sup>.

Um século depois, foi observado, em um estudo<sup>(102)</sup>, que os tecidos dentais eram permeáveis ao peróxido de hidrogênio. Alguns anos mais tarde, um outro pesquisador fez algumas considerações sobre o mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio e do ácido hidrocloreídrico como agentes removedores de manchas. Para ele, o ácido hidrocloreídrico não seria considerado um agente ideal para esse propósito, pois provocaria desmineralização do esmalte e, com isso, seria um removedor de manchas não seletivo. Em comparação ao ácido hidrofluorídrico, o peróxido de hidrogênio seria mais seletivo, pois não contaria com o processo de desmineralização para promover a remoção de manchas. Segundo o autor, o processo clareador gerado pelo peróxido de hidrogênio ocorreria no esmalte e na dentina, provavelmente através de um mecanismo de oxidação dos pigmentos. Ele afirma que o esmalte é bastante permeável ao peróxido de hidrogênio. Isso ocorreria por causa do baixo peso molecular dessa substância e em função da sua habilidade em desnaturar proteínas, acontecendo uma movimentação iônica através dos tecidos dentários<sup>(90)</sup>.

Um estudo avaliou a taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio frente a várias condições. Os autores verificaram o número de moléculas de oxigênio liberadas, tanto em soluções ácidas como básicas. Foram utilizadas no estudo as

seguintes soluções: peróxido de hidrogênio a 30% (PH); PH misturado com ácido hidrocloreídrico a 36% e éter; PH misturado com hidróxido de sódio a 20%; PH misturado com cloreto de ferro III. As soluções foram analisadas nas temperaturas de 16°, 20° e 45°C. Os autores observaram que a decomposição do peróxido de hidrogênio era acelerada pelo calor e que acontecia de maneira mais rápida e violenta na solução feita a partir da mistura de PH e hidróxido de sódio. A decomposição da solução de PH e cloreto de ferro III foi considerada violenta e, como formou uma solução escura, poderia manchar os dentes. Os autores concluíram que as soluções que contêm peróxido se decompõem em água e oxigênio e ressaltam que o peróxido de hidrogênio é mais estável em solução ácida do que em solução básica. Destacam, ainda que a reação de decomposição do peróxido de hidrogênio pode ser acelerada sem o uso do calor, apenas misturando-o ao hidróxido de sódio<sup>(103)</sup>.

Os agentes clareadores são, na sua maioria, à base de peróxido e são capazes de produzir radicais livres altamente reativos. Esses radicais, derivados do oxigênio, degradam as moléculas cromatogênicas, através de uma reação de oxidação-redução (redox), transformando-as em moléculas cada vez mais simples, com menor quantidade de ligações insaturadas e anéis de heteroátomos<sup>(104)</sup>. Essa alteração molecular faz com que elas absorvam menos luz e pareçam mais claras<sup>(105)</sup>.

As reações de redox envolvem transferência de elétrons. Essa transferência é gerada entre um agente redutor e um agente oxidante. O agente redutor é uma espécie química que tende a ceder elétrons de sua estrutura química para o meio, tornando-se uma espécie oxidada. Já o agente oxidante é uma espécie química que tende a captar estes elétrons cedidos, tornando-se reduzido<sup>(106)</sup>. Desta forma, o

agente clareador agiria como uma espécie oxidante e o cromóforo seria então, oxidado<sup>(65, 107, 108)</sup>. O potencial de redox (tendência para adquirir elétrons e desse modo, ser reduzido) do peróxido de hidrogênio é de 1,78 V<sup>(109)</sup>.

O agente clareador ativo no peróxido de carbamida é o peróxido de hidrogênio. Um gel de peróxido de carbamida a 10% é equivalente a uma solução de peróxido de hidrogênio a 3,3%<sup>(110)</sup>.

Em contato com a estrutura dental, o peróxido de carbamida se dissocia em peróxido de hidrogênio e uréia. Essas substâncias têm baixo peso molecular e movimentam-se pelo esmalte e pela dentina. A uréia libera dois compostos, a amônia e o dióxido de carbono. Já o peróxido de hidrogênio se decompõe em solução aquosa para formar radicais livres reativos. Esses radicais reagem com moléculas orgânicas para adquirirem estabilidade, gerando outros radicais<sup>(111)</sup>.

Em geral, o clareamento promovido pelo peróxido de hidrogênio não é muito bem compreendido, mas sabe-se que essa substância pode formar várias espécies de oxigênio que dependem das condições da reação, incluindo temperatura, pH, luz e presença de íons metálicos, como o ferro<sup>(65)</sup>. Sob condições alcalinas, o peróxido de hidrogênio sofre dissociação iônica e dá origem à formação do ânion peridroxil ( $\text{HO}_2^-$ ) que pode ser uma espécie ativa do processo clareador e também age como um doador de elétrons para iniciar a formação de radicais livres. Além da dissociação iônica, o peróxido de hidrogênio pode passar por clivagem homolítica (clivagem de uma ligação que produz dois radicais). Esse processo ocorre principalmente quando o peróxido é exposto à alta temperatura e/ou sofre ação de luz UV. O processo de clivagem homolítica pode resultar no surgimento de um poderoso agente oxidante, chamado radical hidroxil ( $\text{HO}\bullet$ ), que tem potencial de redox de 2,80 V<sup>(109)</sup>. Então segue-se uma reação em cadeia para formar novos



radicais de oxigênio, como os radicais peridroxil ( $\text{HO}\cdot$ ) e ânion superóxido ( $\text{O}_2\cdot^-$ ). Esses radicais livres “quebrariam” as duplas ligações dos cromóforos, alterando o comprimento de onda energético absorvido pelos mesmos<sup>(68)</sup>.

Os mecanismos que envolvem as reações do clareamento são variáveis e dependentes do substrato, ambiente da reação e dos processos catalíticos envolvidos. Como o peróxido de hidrogênio oxida uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos<sup>(65)</sup>, talvez os agentes clareadores não oxidem apenas os cromóforos, mas também reajam com a parte orgânica da estrutura dental<sup>(112)</sup>, o que pode causar alterações na estrutura dental clareada.

O momento em que ocorre o máximo de simplificação das cadeias dos cromóforos é chamado de ponto de saturação do clareamento. A partir dessa etapa, os pigmentos não são mais clareados e o agente clareador começa a atuar em outros compostos que apresentam cadeias de carbono, como as proteínas da matriz do esmalte<sup>(113)</sup>. Nesse ponto, ocorre perda de estrutura dental, por isso é necessário saber quando cessar o processo, pois, no momento em que há perda de estrutura dental, perde-se todo benefício estético do clareamento<sup>(42)</sup>.

Essa perda de estrutura pode ser caracterizada por mudanças no conteúdo mineral de dentes clareados<sup>(28)</sup>, aumento da porosidade do esmalte<sup>(15, 19, 30, 93)</sup>, aumento da permeabilidade do esmalte<sup>(26)</sup>, diminuição da microdureza do esmalte<sup>(36)</sup> e da dentina<sup>(2, 37)</sup>, diminuição da resistência adesiva pós-clareamento<sup>(38, 39)</sup> e sensibilidade dentinária, trans e pós-operatória<sup>(4, 24)</sup>.

## **2.6 Substâncias utilizadas para minimizar os efeitos adversos causados pelo tratamento clareador**

Frente a todas as alterações que os agentes clareadores podem provocar na estrutura dental, existem alguns produtos que visam minimizar ou até mesmo evitar os efeitos adversos decorrentes do clareamento. Como a sensibilidade dental trans e pós-operatória é um efeito adverso muito relatado e incomoda a maioria dos pacientes, sua prevenção e tratamento são um desafio para o cirurgião-dentista.

Os tratamentos atuais para sensibilidade dentinária tem sua ação baseada no impedimento da movimentação do fluido dentro dos túbulos dentinários ou no bloqueio da ativação neural dos mecano-receptores pulpare, ou de ambos<sup>(114)</sup>.

Vários agentes dessensibilizantes têm sido empregados para tratar a sensibilidade dental trans e pós-operatória. O nitrato de potássio a 5% é muito utilizado para esse fim. Os íons potássio têm, como potencial, despolarizar a membrana da célula nervosa, causando efeito dessensibilizante pela inibição da ativação neural e impedimento da propagação do estímulo doloroso<sup>(115)</sup>. Porém é necessária a penetração de um número significativo de íons potássio nos túbulos dentinários para ocorrer a inibição do estímulo nervoso<sup>(116)</sup>.

Autores estudaram duas opções de tratamento para a sensibilidade dental, a direta inibição da ativação neural pela ação de soluções de potássio e a oclusão tubular. Eles contestam a inibição neural pelo fato de que, em alguns pacientes, a espessura de dentina pode exceder 2-3 mm, o que seria muito difícil para os agentes ativos difundirem-se até a camada sub-odontoblástica, alterando a

atividade das fibras nervosas. Os autores afirmam que o tratamento da sensibilidade, baseado na oclusão tubular, seria o mais correto<sup>(117)</sup>.

De acordo com a literatura<sup>(116, 117)</sup>, o método mais efetivo para diminuir a sensibilidade é através do selamento e obliteração dos túbulos dentinários, com o objetivo de prevenir o movimento dos flúidos dentinários e com isso a dor. O flúor é um agente dessensibilizante muito utilizado para este fim. Diferentemente do nitrato de potássio, ele atua como obliterador de túbulos dentinários através de sua união com íons cálcio, resultando em fluoretos de cálcio que, por sua vez, reduzem o diâmetro dos túbulos. Entretanto o tamanho do cristal formado é pequeno e menos efetivo do que os cristais formados por outros compostos. Além disso, os cristais de flúor são solubilizados com rapidez, especialmente os de fluoreto de sódio<sup>(116)</sup>. Para selar efetivamente túbulos dentinários com flúor, é necessário um ambiente alcalino, oferta de cálcio e de ânions como fosfato ou carbonato. Devido a isso, a incorporação de fluoreto é provavelmente interrompida por mudanças de pH que ocorrem frequentemente na boca<sup>(75)</sup>.

Frente a essa problemática, têm-se desenvolvido produtos com a intenção de fornecer cálcio e fosfato à estrutura dental, além do fluoreto, de tal forma a promover a obliteração dos túbulos dentinários e diminuir a sensibilidade dental.

A American Dental Association Foundation (ADA), órgão de grande representação nos USA, desenvolveu uma substância remineralizadora à base de fósforo e cálcio. Esse composto, conhecido genericamente como ACP (“amorphous calcium phosphate”), tem como função remineralizar a estrutura dental e reverter lesões de cárie incipiente. Segundo a ADA, esse produto também é capaz de diminuir a sensibilidade ao frio, calor e estimulação tátil.

Para que o ACP seja viável para ser aplicado sobre a estrutura dental, desenvolveu-se um método, que consiste da mistura de duas soluções estáveis: uma contendo alta concentração de cálcio ácido e outra com alta concentração de fosfato básico e carbonato. Quando essas substâncias são combinadas e aplicadas na superfície dental, o pH da solução se eleva rapidamente devido à evaporação do dióxido de carbono e, então, os íons cálcio e fosfato precipitam-se como ACPs, convertendo-se posteriormente em apatita mineral, similar a encontrada naturalmente nos dentes. Os cristais de ACP são capazes de depositarem-se em toda a superfície coronária, quer seja em esmalte quer em dentina exposta e obliteram ainda os túbulos dentinários abertos em poucas aplicações<sup>(56, 118)</sup>. A hidrólise do ACP puro para apatita ocorre rapidamente no pH 7,4 a 37° C em 6 minutos<sup>(119-122)</sup>.

É importante que, além da oferta de cálcio e fósforo, haja disponibilidade de flúor no ambiente oral, para que possa haver a conversão de hidroxiapatita em fluorapatita. O flúor melhora as propriedades físico-químicas da estrutura dental, de tal forma que a fluorapatita é a menos solúvel das apatitas<sup>(123, 124)</sup>. Daí a importância da disponibilização de flúor na água, dentifrícios, colutórios e alimentos<sup>(113)</sup>. A resistência dos dentes à dissolução dependerá da proporção das diferentes apatitas, ou seja, quanto mais fluorapatita houver, maior será a resistência dos dentes à dissolução<sup>(44)</sup>.

Os efeitos da aplicação de um composto de cálcio e fosfato na superfície dental foram analisados através de uma pesquisa clínica que selecionou 30 pacientes com sensibilidade dentinária. No grupo 1, foi aplicado composto de cálcio e fosfato: 1,5 mol/L de solução aquosa de  $\text{CaCl}_2$  seguida de 1,0 mol/L de solução aquosa de  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ; e no grupo 2 (controle): 1,0 mol/L de solução aquosa de KCl

seguida pela aplicação de água destilada. Os resultados mostraram que nos dois grupos houve redução da sensibilidade, porém ela ocorreu de forma mais rápida para o grupo 1, tratado com cálcio e fosfato. Os autores concluem que a aplicação tópica desse composto reduz de maneira mais rápida e efetiva a sensibilidade dentinária, se comparado ao tratamento controle (placebo)<sup>(56)</sup>.

Em uma outra pesquisa, foram analisados os efeitos de um dessensibilizante à base de ACP (Relief ACP - Discus Dental) sobre microdureza e a morfologia superficial de dentes humanos extraídos. O Grupo experimental (Relief ACP) foi submetido a 30 minutos diários de tratamento por 28 dias. Durante todo o período do experimento, o grupo controle foi mantido em 100% de umidade. Os autores não encontraram nenhuma diferença estatisticamente significativa na microdureza superficial entre as amostras que receberam e as que não receberam tratamento remineralizador. As fotomicrografias revelaram que houve deposição mineral dentro dos túbulos dentinários abertos tratados com Relief ACP, sendo que a maioria dos túbulos mostraram-se completamente obliterados pelos depósitos. No grupo controle, não foram observados depósitos minerais<sup>(45)</sup>.

Um recente estudo analisou o efeito da combinação de hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio a 30% sobre a microdureza e morfologia do esmalte dental humano. O uso apenas de peróxido de hidrogênio a 30% causou redução estatisticamente significativa dos valores de microdureza, bem como alterações morfológicas. A combinação de hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio fez com que a redução dos valores de microdureza não fosse tão acentuada e a análise morfológica não mostrou alterações no esmalte superficial. O uso apenas da solução de hidroxiapatita não causou alterações nos valores de microdureza. Os

pesquisadores concluem que a hidroxiapatita pode ser um biomaterial com grande potencial para ser utilizado no auxílio do clareamento dental<sup>(112)</sup>.

Frente às alterações estruturais<sup>(2, 26, 36)</sup>, químicas<sup>(22, 30, 113, 125)</sup> e de sensibilidade<sup>(52, 55)</sup> que os agentes clareadores podem provocar e os efeitos benéficos do ACP, este foi incorporado em alguns géis clareadores. Essa incorporação tem como objetivo minimizar ou até mesmo evitar a perda de minerais, o surgimento de porosidades e erosões na estrutura dental clareada. Visa ainda contribuir para a redução de sensibilidade trans e pós-operatória e melhorar a estabilidade de cor dos dentes clareados, por diminuir a precipitação de proteínas superficiais, limitando a penetração de moléculas cromóforas (pigmentos) no esmalte dental<sup>(52)</sup>.

A partir do método descrito acima, a indústria odontológica começou a adicionar ACP a diferentes materiais.

Há cinco anos, foi descrito o sistema para aplicação do ACP encontrado em cremes dentais e géis clareadores. O cálcio e o fosfato devem ser mantidos separados fisicamente, prevenindo a reação dos componentes e formação prematura do fosfato de cálcio antes do produto ser usado<sup>(122)</sup>.

O ACP vem sendo constantemente colocado na fórmula de diferentes produtos como, por exemplo, clareadores, substâncias dessensibilizantes, dentifrícios, pastas profiláticas, selantes de fóssulas e fio dental.

Com intuito de pesquisar sobre os possíveis benefícios que um gel clareador com ACP poderia trazer, um grupo de pesquisadores realizou um estudo clínico de 180 dias utilizando dois géis clareadores à base de peróxido de carbamida a 16%, com e sem ACP adicionado à fórmula. Para análise de cor, foi utilizada a escala VITA e, para análise de sensibilidade, foram usados 3 parâmetros (sensibilidade

térmica, sensibilidade tátil e relatos feitos pelos sujeitos da pesquisa). Essas análises foram realizadas em 7 momentos: imediatamente, após 3 dias, após 7 dias, após 14 dias, após 19 dias, após 90 dias e após 180 dias. Seis meses após o tratamento clareador, foi notado, nos dois grupos, significativo clareamento dental comparado com os dados obtidos no dia 0 (zero), ou seja, antes de o tratamento ser realizado. Foi observado no grupo teste (ACP) um melhor desempenho, estatisticamente significativo em relação à melhoria da cor pós-clareamento comparado ao grupo controle. Esse estudo demonstrou que o ACP pode ser adicionado a um gel clareador de peróxido de carbamida a 16% e que seu uso também resulta em uma significativa redução de sensibilidade dentinária durante e após o tratamento clareador<sup>(53)</sup>.

Um outro estudo comparativo, *in vivo*, de 19 dias, foi realizado com os mesmos géis descritos acima. Os autores pesquisaram através de um estudo clínico de 19 dias, os possíveis benefícios que um gel clareador com ACP poderia trazer. Foram utilizados dois géis clareadores à base de peróxido de carbamida a 16%: G1-peróxido de carbamida 16% + ACP e G2-peróxido de carbamida 16% – Nite White Regular sem dessensibilizante. Os dois grupos de pacientes foram instruídos a utilizar o gel clareador por, no mínimo, 4 horas diárias, em um período de 14 dias. Através de um protocolo minucioso, foram realizadas medições de cor, condição gengival e sensibilidade nos: 3º, 7º, 14º dias do tratamento e 5 dias após o término do tratamento. A avaliação de cor indicou que os dentes dos dois grupos obtiveram significativa diminuição de matiz. Depois dos 14 dias de tratamento, foi verificado que o grupo 1 não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação à cor do grupo 2. Já, o grupo do gel com ACP demonstrou significativa queda nos valores de sensibilidade térmica e tátil no 14º dia. Cinco dias após o tratamento ser cessado,

uma significativa melhora na porcentagem de pacientes (80%) retornou aos valores de sensibilidade térmica inicial se comparado com o grupo 2 (40%). Em relação à sensibilidade tátil, 64% dos sujeitos do grupo 1, contra 52% do grupo 2 alcançaram os valores iniciais. Segundo os autores, o gel clareador que contém ACP em sua fórmula pode ser clinicamente vantajoso por possuir efeito clareador equivalente ao que não contém ACP e por reduzir a sensibilidade<sup>(52)</sup>.

Outra tecnologia que utiliza o ACP é o chamado CPP-ACP ou “Recaldent”. Ele foi descoberto e patenteado pelo membros da “School of the Dental Science” da Universidade de Melbourn na Austrália. É derivado da caseína, parte da proteína encontrada no leite bovino. O CPP (Casein Phospho Peptides) agrega e estabiliza o ACP, além de ter a capacidade de se aderir à película salivar, à placa bacteriana e aos tecidos moles bucais<sup>(123, 124, 126)</sup> de tal forma que os complexos de CPP-ACP permanecem por mais tempo no meio bucal. Quando ocorre a queda no pH oral, os íons alojados dentro das moléculas de CPP são solubilizados de forma lenta e gradual a fim de atuarem no mecanismo de remineralização<sup>(44, 123, 127)</sup>. O “Recaldent” está disponível nas gomas de mascar “Trident White®”, da Adams e no creme para aplicação tópica “GC MI Paste” da CG America.

Existem atualmente trabalhos comprovando a eficácia clínica da adição de fosfato e cálcio à géis clareadores em relação à cor obtida, durabilidade do efeito clareador (estabilidade da cor), sensibilidade trans e pós-operatória e toxicidade<sup>(52, 53, 56)</sup>. No entanto não há na literatura qualquer estudo sobre a análise microestrutural de dentes tratados com géis clareadores ou produtos remineralizantes que contenham fosfato e cálcio e sua correlação com a análise de microdureza, como foi proposto neste estudo.



Recentemente, foi lançado no mercado um gel clareador com gluconato de cálcio adicionado à sua fórmula. Segundo o fabricante, a adição dessa substância minimizaria a desmineralização provocada pelo tratamento clareador, contribuindo para que a redução da microdureza, que é observada no esmalte clareado, seja minimizada. E, como ainda não existem estudos na literatura a seu respeito, resolveu-se analisar qual seria a influência dessa substância na estrutura dental.

## **2.7 Métodos para estudar os efeitos dos clareadores na estrutura dental**

Como salientado previamente, os agentes clareadores podem provocar diversas alterações na estrutura dental que podem ser estudadas de muitas formas:

### **2.7.1 Análise por meio de microscopia**

O MEV é um equipamento usado rotineiramente nas pesquisas odontológicas para análise de materiais sólidos. Sabe-se que o MEV tradicional é capaz de gerar imagens com resolução máxima na ordem de micrometros e o MEV por emissão de campo (FEG), um equipamento mais moderno, pode fornecer imagens em escala nanométrica. Em virtude dessa altíssima capacidade de resolução, o FEG torna-se um equipamento bastante indicado para a observação de alterações provocadas na

estrutura dental, pois permite a observação de detalhes que antes não podiam ser detectados com a microscopia eletrônica tradicional. Contudo o FEG ainda é um equipamento pouco utilizado na odontologia.

As alterações topográficas que ocorrem na estrutura dental clareada têm sido avaliadas através de diferentes técnicas, sendo as mais utilizadas: microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM).

Trabalhos científicos, usando microscopia eletrônica de varredura, têm revelado diversas alterações na superfície do esmalte de dentes submetidos ao clareamento, como erosões, porosidades e depressões<sup>(21, 30)</sup>. Para outros autores<sup>(6, 63)</sup>, não existe consenso quanto à presença de alterações relevantes na estrutura do esmalte após a aplicação de agentes clareadores caseiros.

Autores analisaram a superfície do esmalte humano clareado com peróxido de carbamida a 10%, através de microscopia eletrônica de varredura. A face mesial dos dentes foi tratada por 4 horas diárias, durante 3 semanas, e a distal permaneceu como controle. Nas faces clareadas, os autores observaram alterações topográficas, semelhantes a erosões na superfície do esmalte e concluíram que o gel de peróxido de carbamida pode estar associado com inflamação crônica e sensibilidade dental<sup>(16)</sup>.

Um outro estudo verificou o efeito do peróxido de carbamida à 10% na superfície do esmalte humano, utilizando MEV. A face mesial dos dentes serviu de controle, enquanto a distal foi exposta ao gel clareador (7 horas), totalizando 245 horas de contato da estrutura dental com o peróxido de carbamida. Após a remoção do gel, o dente foi imerso em saliva artificial (1 hora). Dentes não tratados e condicionados com ácido fosfórico a 37% foram preparados visando à comparação com os outros grupos. As fotomicrografias foram obtidas em aumentos de 100x,

200x, 1.000x e 5.000x. A análise das imagens revelou não haver diferença entre as superfícies tratadas ou não com peróxido de carbamida, diferenciando-se, entretanto, em relação ao grupo tratado com ácido fosfórico a 37%. Os autores não observaram diferença na textura entre a área tratada e não tratada e ressaltam que as controvérsias existentes entre os diferentes trabalhos que utilizam peróxido de carbamida se devam aos diferentes materiais aplicados e aos métodos empregados, como, por exemplo, o pH dos produtos clareadores utilizados<sup>(11)</sup>.

Pesquisadores desenvolveram um estudo com 7 agentes clareadores, variando a concentração do peróxido de carbamida ou peróxido de hidrogênio e o pH dos produtos. Avaliaram seus efeitos sobre a dentina com “smear layer”, esmalte íntegro e materiais restauradores (liga de ouro, amálgama, porcelana e resina). Cada amostra de material, dentina e esmalte foi imersa nas substâncias testadas por 2-3 horas diárias durante 5 semanas. Após o período de 2 e 5 semanas, todas as amostras foram observadas através de microscopia eletrônica de varredura que evidenciou, no esmalte, pouca ou nenhuma mudança; na dentina, remoção de “smear layer”; na liga de ouro, amálgama e resina de micropartículas, nenhuma mudança foi observada; na porcelana, houve suave mudança; e na resina de macropartícula, observou-se ligeiro aumento na rugosidade. Os autores concluíram que os agentes clareadores utilizados não provocaram alterações significativas na estrutura dentária e nos materiais restauradores e que os agentes clareadores são eficientes clinicamente<sup>(128)</sup>.

Em outro estudo, a superfície externa de dentes expostos a quatro produtos clareadores com diferentes pH, foi avaliada através de microscopia eletrônica de varredura. Os dentes foram divididos em: grupo I (Proxigel), produto de baixo pH e liberação lenta de oxigênio; grupo II (Gly-Oxide), com elevado pH e rápida liberação

de oxigênio; grupo III (White & Brite), com alto pH e liberação moderada de oxigênio à base de peróxido de carbamida a 10%; e no grupo IV (Peroxil), foi utilizado um gel à base de peróxido de hidrogênio a 1,5%, possuindo baixo pH. Os dentes foram divididos ao meio, tendo uma parte clareada durante um total de 250 horas e a outra metade, imersa em água destilada pelo mesmo tempo. Os espécimes foram comparados ao grupo controle e a um grupo condicionado com ácido fosfórico a 37%. As superfícies de esmalte de todos os espécimes clareados diferiram significativamente apenas quando comparadas com o grupo tratado com ácido fosfórico. Não foram observadas modificações na textura dos espécimes clareados quando comparados com o grupo controle. Segundo os autores, os produtos com baixo pH não causaram desmineralização no esmalte, pois a solução de peróxido é instável e, quando em contato com a saliva ou tecido, rapidamente se dissocia<sup>(89)</sup>.

Em outro estudo, foi avaliado o efeito de 3 agentes clareadores sobre o esmalte humano superficial por intermédio de MEV. Cada dente teve uma metade protegida e a outra metade recebeu o tratamento clareador por 30 horas. Alterações significativas na superfície do esmalte exposto aos agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10% foram observadas. No grupo em que recebeu pré-tratamento com uma solução que contém ácido cítrico, ácido fosfórico, poliéter e glicerina, foram observadas, além do aumento da porosidade, áreas de dissolução superficial do esmalte. Nos outros grupos, foram observadas alterações não uniformes na superfície do esmalte e porosidade evidente. Os autores concluíram que os agentes clareadores ou soluções de pré-tratamento são naturalmente ácidos e têm grande potencial de causar desmineralização na estrutura dental<sup>(20)</sup>.

Ao investigar o efeito de diferentes produtos contendo peróxido de carbamida a 10% sobre o esmalte dental, com o auxílio de MEV, alguns autores observaram

que as alterações mais severas na morfologia superficial do esmalte ocorreram nas amostras expostas às soluções de menor pH<sup>(12)</sup>. Por outro lado, pesquisadores, ao utilizarem diferentes géis clareadores contendo peróxido de carbamida 10-15% e pH variando entre 6 a 6,5, observaram que esses produtos alteraram a morfologia dos tecidos duros do dente de maneira similar à solução aquosa de peróxido de hidrogênio, indicando que os agentes clareadores induzem alterações morfológicas não relacionadas exclusivamente ao seu pH<sup>(6)</sup>.

Pesquisadores realizaram um estudo, *in vitro*, com 16 amostras de terceiros molares, os quais ficaram imersos em solução clareadora de peróxido de carbamida a 10% (Opalescence) por um total de 4 semanas, sendo posteriormente analisados por MEV. Observaram aumento no número de poros na superfície do esmalte, sendo essas alterações semelhantes a erosões dentais, sugerindo que o agente clareador tenha efeito erosivo, o que prejudica o esmalte<sup>(113)</sup>.

Através de microscopia de força atômica, foi avaliado o efeito de 3 agentes clareadores: Opalescence da Ultradent (peróxido de carbamida a 10%), Nite White da Discus Dental (peróxido de carbamida a 10%), solução de peróxido de hidrogênio a 30% da Sigma Chemical Co., sobre a superfície de esmalte humano. Quinze dentes foram distribuídos em 3 grupos (n=5) e analisados antes e após o uso dos diferentes agentes clareadores. Foram observadas muitas ranhuras no esmalte hígido, que se tornaram mais profundas e largas após o uso dos agentes clareadores, sendo que o peróxido de hidrogênio a 30% causou mais alterações se comparado ao esmalte tratado com os outros dois produtos à base de peróxido de carbamida a 10%. Os autores concluíram que os agentes clareadores analisados foram capazes de alterar a superfície do esmalte e acreditam que tanto o peróxido

de carbamida quanto o de hidrogênio afetam a porção orgânica do esmalte e penetram no tecido dentinário por terem baixo peso molecular<sup>(46)</sup>.

Alguns autores avaliaram a morfologia, rugosidade e microdureza superficial do esmalte dental humano tratado com seis agentes clareadores (antes e depois do tratamento). Amostras de esmalte dental humano foram obtidas de terceiros molares e aleatoriamente distribuídas em sete grupos (n=11): controle, Whiteness Perfect-peróxido de carbamida (PC) a 10%, Colgate Platinum-PC 10%, Day White-peróxido de hidrogênio (PH) a 7,5%, Whiteness Super-PC 37%, Opalescence Quick-PC 35% e Whiteness HP-PH 35%. Os agentes clareadores foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes e o grupo controle permaneceu sem tratamento e armazenado em saliva artificial. A análise microestrutural feita através de MEV mostrou alterações morfológicas na estrutura dental clareada. O esmalte dental clareado sofreu diminuição estatisticamente significativa dos valores de microdureza Knoop e aumento significativo da rugosidade superficial, independente do tipo de agente clareador utilizado<sup>(129)</sup>.

Outros autores realizaram um estudo em 15 pré-molares hígidos avaliando as alterações morfológicas da estrutura do esmalte submetido ao tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 35% em duas formas comerciais: Whiteness HP (FGM) e feito em farmácia de manipulação (PhD), com valores de pH distintos. Através de análise com MEV, esses autores concluíram que os dois clareadores estudados podem causar alterações estruturais, como erosão e porosidade na superfície do esmalte<sup>(21)</sup>.

Em outro estudo, foi analisada a possibilidade do peróxido de carbamida a 10% (pH= 6,8) ter efeito desmineralizante tanto na superfície do esmalte quanto na dentina. Foram utilizados 12 molares humanos seccionados, os quais receberam o

agente clareador por 8 horas/dia, em um período de 15 dias. No final de cada sessão de clareamento, as amostras foram imersas em 2,5 ml de saliva artificial (pH=6,9), composta com cálcio e fosfato, gerando um efeito remineralizador. Os autores constataram que o agente clareador causou desmineralização no esmalte dental até a profundidade de 50µm e, como o pH da solução clareadora era de 6,9, a desmineralização encontrada após a aplicação do gel não pôde ser atribuída ao seu pH<sup>(130)</sup>.

Foi desenvolvido um estudo com objetivo de avaliar se os agentes clareadores caseiros: Day White 7,5% e 9,5% (peróxido de hidrogênio), da Discus Dental; Pola Day 7,5% e 9,5% (peróxido de hidrogênio), da SDI; Vivastyle 10% e 16% (peróxido de carbamida), da Ivoclar\_Vivadent teriam capacidade de provocar alterações morfológicas e perda mineral no esmalte humano. A mensuração da perda mineral foi realizada por meio de um espectrofotômetro de emissão atômica por indução de plasma de argônio acoplado e a análise morfológica foi feita através de MEV. Os resultados mostraram que todos os agentes clareadores estudados provocaram perda do conteúdo mineral do esmalte. A concentração dos agentes clareadores com o mesmo pH não influenciou na quantidade dos elementos químicos perdidos. Já o pH dos agentes clareadores influenciou na perda mineral, sendo que os clareadores com menor pH provocaram maiores perdas. Todas as superfícies de esmalte clareadas apresentaram alterações topográficas. As irregularidades mais severas foram observadas nos espécimes tratados com agentes clareadores de pH ácido. Segundo os autores, em algumas áreas as modificações provocadas pelos clareadores assemelham-se às alterações causadas pelo condicionamento ácido a 37% por 15 segundos<sup>(7)</sup>.

Pesquisadores investigaram, através de MEV, os efeitos de vários agentes clareadores na junção cimento-esmalte. Trinta dentes humanos foram selecionados e seccionados longitudinalmente, gerando sessenta espécimes. Destes, trinta serviram como controle e a outra metade foi dividida entre os seis grupos experimentais (n=5). Os dentes foram clareados através de diferentes protocolos, utilizando-se peróxido de carbamida a 10% ou peróxido de hidrogênio a 35%. A análise microscópica mostrou que ocorreram alterações no esmalte e no cimento de todos os espécimes clareados, contudo a junção amelo-cementária foi a região mais afetada, revelando alterações no padrão da junção, como aumento da exposição da superfície dentinária, formação de junções do tipo “gap”, exibição de extensas áreas de cimento separadas do esmalte e presença de áreas sem cimento intermediário e com exposição dos túbulos dentinários<sup>(131)</sup>.

Em um estudo *in vitro*, foi analisada a morfologia e rugosidade superficial do esmalte e da dentina (substratos hígidos e desmineralizados) tratados com peróxido de carbamida a 10% (Opalescence - Ultradent) ou com um agente placebo, por três semanas. Quarenta espécimes foram fixados na face vestibular de 1<sup>os</sup> molares e 2<sup>os</sup> pré-molares superiores de dez voluntários que foram divididos em dois grupos (os que receberam tratamento clareador e os que receberam tratamento com um gel placebo). Os autores constataram que não houve alteração nos padrões morfológicos do esmalte e da dentina (hígido ou desmineralizado) tratados com o gel clareador. A análise estatística mostrou diferença significativa na rugosidade do esmalte (hígido ou desmineralizado) tratado com Opalescence ou com o gel placebo, sendo que os espécimes mais rugosos foram os tratados com o gel clareador. Não houve alteração da rugosidade para a dentina (hígida ou desmineralizada) tratada com Opalescence e com o gel placebo<sup>(3)</sup>.



### 2.7.2 Teste de microdureza

O ensaio de microdureza é um outro tipo de análise que permite avaliar o impacto dos procedimentos clareadores na estrutura dental.

Pesquisadores estudaram os possíveis efeitos de três agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10%, com diferentes pH, em relação à microdureza e alteração superficial do esmalte. Pequenos fragmentos de esmalte foram fixados a um dispositivo de acrílico removível e posicionados na boca de pacientes, simulando condições próximas às que ocorrem num tratamento clareador *in situ*. Os fragmentos ou permaneceram em saliva artificial (controle) por 15 horas diárias, fora da cavidade bucal, ou permaneceram 8 horas na cavidade oral, durante quatro semanas. Não houve alterações significativas na microdureza do esmalte com nenhum dos tratamentos. A análise microestrutural feita através de microscópio eletrônico de varredura revelou alterações na superfície do esmalte com os três tratamentos clareadores. Essas alterações foram caracterizados por um padrão irregular e tênue, pequenas áreas de destruição superficial, sendo mais severas nos materiais que possuem um menor pH. Para os autores, o clareamento com peróxido de carbamida a 10% altera o processo de remineralização do esmalte, ao ser exposto à saliva<sup>(12)</sup>.

O efeito do peróxido de carbamida sobre a estrutura dental foi avaliado em um estudo que constatou significativa redução na microdureza do esmalte e dentina clareados. Os autores concluíram que o uso prolongado de agentes clareadores pode diminuir significativamente a microdureza da superfície do esmalte em uma profundidade de até 25  $\mu\text{m}$ <sup>(50)</sup>.

Em um estudo, foi avaliada a ação de cinco diferentes géis clareadores caseiros à base de peróxido de carbamida (Nite White 16% e 10%, Opalescence, Karisma Alpha e Perfect Smile) sobre a microdureza do esmalte humano. Vinte e cinco incisivos centrais superiores recém extraídos foram utilizados nesse estudo. A superfície vestibular dos dentes foi lixada e polida e os espécimes incluídos em resina acrílica. Foram realizadas dez medidas iniciais de microdureza Vickers em cada espécime. Os cinco grupos foram submetidos à ação do peróxido de carbamida por oito horas diárias durante sete dias. Após finalizado o tratamento clareador, foram determinados novos valores de microdureza. Este estudo mostrou que o esmalte humano sofreu redução estatisticamente significativa dos valores de microdureza após a aplicação dos diferentes géis clareadores estudados. Os autores acreditam que essa redução se deve à ação do peróxido na matriz orgânica do esmalte ou aos agentes ácidos e quelantes presentes nas fórmulas dos géis clareadores<sup>(132)</sup>.

Um outro estudo avaliou, *in vitro*, a microdureza do esmalte humano tratado com um agente clareador à base de peróxido de carbamida a 10% (Rembrandt 10%) associado a dois diferentes dentífrícios dessensibilizantes (Sensodyne e Sensodyne Flúor). Um agente placebo foi utilizado para o grupo controle. O agente clareador ou placebo foi aplicado nos fragmentos de esmalte durante 8 horas por dia, seguido por imersão de 5 minutos em solução feita com os diferentes dentífrícios, dependendo do grupo a que pertenciam. Durante o experimento os espécimes foram armazenados em saliva artificial. Os valores de microdureza Knoop foram determinados em diferentes períodos: inicial, após 8 horas e 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de tratamento clareador e após 7 e 14 dias de período pós-tratamento. Os autores concluíram que o uso de um dentífrício dessensibilizante associado ao uso

de um agente clareador à base de PC a 10% ou ao agente placebo aumentou os valores de microdureza do esmalte em todos os períodos estudados<sup>(25)</sup>.

Foi realizada uma avaliação *in vitro* dos efeitos de um gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 6% sobre a microdureza do esmalte e da dentina humana. Valores de microdureza Vickers iniciais e finais foram determinados. Os autores não observaram alteração estatisticamente significativa nos valores de microdureza<sup>(48)</sup>.

A influência do peróxido de carbamida a 10%, do carbopol, da glicerina e suas associações sobre a microdureza dos tecidos dentais (esmalte e dentina) hígidos e desmineralizados foi investigada. Os agentes foram aplicados na superfície dos espécimes por oito horas diárias por 42 dias. Durante o todo o experimento os espécimes foram armazenados em saliva artificial. As medidas de microdureza Knoop foram determinadas nos períodos: inicial, após 8 horas e 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de tratamento clareador e após 7 e 14 dias de período pós-tratamento. Para o esmalte hígido, esmalte desmineralizado e dentina desmineralizada, houve redução estatisticamente significativa dos valores de microdureza após o tratamento com todos os agentes. Os espécimes tratados com carbopol e suas associações apresentaram uma tendência a menores valores de microdureza, enquanto os tratados com glicerina foram afetados em menor grau<sup>(2)</sup>.

Pesquisadores determinaram a microdureza e rugosidade de fragmentos de esmalte e dentina radicular de incisivos bovinos clareados com produtos à base de peróxido de carbamida a 10%, 15% e 22%. O procedimento clareador foi realizado ao longo de 21 dias e consistiu na aplicação diária dos produtos na superfície dos espécimes por 2 horas, seguido pela imersão em saliva artificial por 22 horas. A microdureza Knoop e a rugosidade superficial foram avaliadas em dois momentos: inicial e pós-tratamento. Para o esmalte, não houve diferença estatisticamente

significativa entre os valores de rugosidade pré e pós-clareamento, mas, para a dentina radicular, houve significativo aumento da rugosidade superficial pós-clareamento. Os valores de microdureza diminuíram significativamente no esmalte clareado. Na dentina radicular não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de microdureza pré e pós-tratamento clareador<sup>(36)</sup>.

Para avaliar os efeitos de diferentes sistemas clareadores e espessantes sobre a microdureza do esmalte humano, foi desenvolvido um estudo *in vitro* e *in situ*. Para a avaliação *in vitro*, foram confeccionados espécimes de esmalte humano, embutidos, lixados e polidos para o ensaio de microdureza Knoop. A análise de microdureza foi realizada em diferentes períodos: antes do tratamento começar, após 7, 14, 21 e 28 dias de tratamento e após 7 e 14 dias do fim do tratamento. Os grupos foram divididos em: G1-gel de peróxido de carbamida a 10% com carbopol (Whiteness Perfect-FGM); G2-gel de carbopol a 2% (Poly Comercial); G3-pasta de peróxido de carbamida a 10% (Colgate Platinum Overnight-Colgate); G4-poloxamero (F&A) e G5-tiras impregnadas com peróxido de hidrogênio a 6,5% (Whitestrips-Crest). Todos os espécimes foram armazenados em saliva artificial. Na avaliação *in situ*, foram fixados dois espécimes nas faces vestibulares dos primeiros molares superiores de 45 voluntários. Os voluntários foram divididos em cinco grupos (iguais ao da avaliação *in vitro*). As avaliações de microdureza foram feitas em dois períodos: antes e logo após o tratamento. Os autores concluíram que os sistemas clareadores à base de peróxido de carbamida a 10% e os espessantes associados ao tratamento com a saliva artificial elevaram a microdureza do esmalte humano durante o período experimental. O sistema clareador com peróxido de hidrogênio a 6,5% causou redução da microdureza do esmalte dental logo após o término do tratamento clareador, sendo recuperado esses valores em seguida. Todos os

tratamentos experimentais *in situ* causaram queda nos valores de microdureza do esmalte<sup>(133)</sup>.

Recentemente, através de uma pesquisa *in situ*, autores estudaram a influência de dois agentes clareadores de uso caseiro sobre a microdureza do esmalte humano. Os valores de microdureza Knoop da superfície dos espécimes foram determinados inicialmente. Em seguida, os espécimes foram colocados em dispositivos intra-orais e usados por 10 voluntários (doadores dos dentes) durante 21 dias. Os espécimes foram divididos em três grupos: G1- controle, G2- tratado com peróxido de carbamida a 10% (Nite White, Discus Dental) e G3- tratado com peróxido de hidrogênio a 7,5% (Day White, Discus Dental). Novos valores de microdureza foram determinados após o tratamento. Através da análise estatística, os pesquisadores constataram que os agentes clareadores usados nesse estudo não provocaram alterações na microdureza do esmalte humano<sup>(51)</sup>.

### 2.7.3 Análise química

Pode-se encontrar na literatura diversas metodologias para a análise do conteúdo mineral de dentes clareadores, dentre elas: espectroscopia de raios-x por dispersão de energia (EDS), espectroscopia eletrônica para análise química (ESCA), espectroscopia de absorção com infravermelho, espectroscopia de infravermelho de Fourier, espectrofotometria de emissão atômica por indução de plasma de argônio acoplado. Essas metodologias são muito utilizadas nos estudos de química analítica e, dependendo do equipamento utilizado, permitem ao

pesquisador identificar elementos químicos em amostras gasosas, sólidas e líquidas.

Por meio de análise química feita através de ESCA, pesquisadores detectaram a perda dos elementos químicos fósforo e cálcio na superfície de dentes clareados com peróxido de carbamida durante três semanas, seguindo aplicações diárias de quatro horas<sup>(16)</sup>.

Em outro estudo, foi utilizado EDS para analisar o conteúdo de fósforo e cálcio de dentes antes e depois do clareamento com os produtos: Brite Smile – peróxido de hidrogênio a 10%, Nu-Smile – peróxido de carbamida a 15% e Rembrandt Lighten – peróxido de carbamida a 10%. Os autores observaram que todos os agentes clareadores provocaram diminuição nos valores de cálcio e fósforo do esmalte dental<sup>(134)</sup>.

A perda de cálcio na superfície do esmalte clareado com produtos à base de peróxido de carbamida à 10%, 15% e 16% foi constatada através de um estudo. As mensurações foram realizadas através de espectroscopia de absorção com infravermelho, espectroscopia de infravermelho de Fourier e EDS<sup>(22)</sup>.

Autores realizaram uma pesquisa, *in vitro*, utilizando 10 incisivos inferiores hígidos, dividindo-os em 2 grupos: grupo controle (armazenado em saliva artificial) e grupo experimental (peróxido de carbamida 10%-Whiteness, FGM). O objetivo desse estudo foi avaliar a ação do agente clareador sobre a estrutura do esmalte, através da medição dos níveis de oxigênio, cálcio e fósforo determinados por EDS. Os autores concluíram que o peróxido de carbamida alterou o nível de fósforo na estrutura do esmalte, enquanto os níveis de cálcio e oxigênio não sofreram variações significativas comparados ao grupo controle<sup>(135)</sup>.

#### 2.7.4 Outros tipos de análise

Em um estudo laboratorial de microinfiltração, foi observado que o peróxido de carbamida a 10% afetou o selamento marginal de restaurações e aumentou a microinfiltração ao redor de restaurações de resina composta. Segundo os autores, este pode ser um mecanismo pelo qual agentes clareadores caseiros alcançam os túbulos dentinários. Isso talvez explique o porquê de alguns pacientes experimentarem mais fenômenos de sensibilidade que outros<sup>(23)</sup>.

A sensibilidade dental é um efeito adverso ao clareamento dental muito reportado na literatura<sup>(25, 71)</sup>. Geralmente é um fenômeno transitório, mas que causa significativo desconforto para o paciente. Autores constataram, através de um estudo clínico, que aproximadamente 55% dos participantes submetidos ao tratamento clareador com peróxido de carbamida 10% tiveram sensibilidade. Destes, 2/3 tinham recessão gengival, restaurações defeituosa ou defeitos na junção cimento-esmalte<sup>(136)</sup>. Esse efeito colateral incomoda a maioria dos pacientes e portanto, os profissionais. Sua etiologia não é muito compreendida, mas acredita-se que os agentes clareadores possam agir como substâncias desmineralizantes, causando sensibilidade por abrirem túbulos dentinários expostos durante o tratamento. Essa teoria seria suportada pelo fato de que pacientes com sensibilidade dentinária pré-existente, devido à exposição radicular, apresentam maior incidência do problema quando têm seus dentes clareados do que comparado a pacientes que não o têm<sup>(55)</sup>.

Um estudo clínico foi conduzido com o objetivo de determinar a incidência de sensibilidade dental durante e após o tratamento clareador caseiro. Cinquenta pacientes usaram um gel a base de peróxido de carbamida a 15% com 0,11% de flúor, sendo que os outros cinquenta pacientes usaram um gel placebo (Glicerina), diariamente, por quatro semanas. Os autores afirmam que, em aproximadamente metade dos pacientes que usaram o peróxido, ocorreu sensibilidade dental moderada, sendo que 4% dos pacientes apresentaram sensibilidade severa. Pacientes com recessão gengival mostram-se mais passíveis de terem sensibilidade durante o tratamento clareador caseiro<sup>(55)</sup>.

A desidratação dental provocada pelo tratamento clareador, o fato de o carbopol (presente na maioria dos géis clareadores) ser ácido e manter os tecidos orais expostos ao agente clareador ativo por muito tempo<sup>(2, 137)</sup>, a alta difusibilidade do peróxido pelo esmalte, e também pela dentina<sup>(89, 90)</sup>, através dos túbulos dentinários até a polpa, podem provocar alterações pulpares reversíveis<sup>(138)</sup>. Deste modo, o desenvolvimento de efeitos colaterais durante o procedimento clareador pode ser considerado um fenômeno multifatorial que envolve interações entre o agente clareador (pela formação de radicais livres) e a estrutura dental<sup>(69)</sup>.

O carbopol é um polímero derivado do ácido poliacrílico de composição química  $C_3H_4O_2$  que inibe completamente o crescimento dos cristais de hidroxiapatita por causa de sua alta capacidade de ligação com o cálcio. Agentes clareadores com carbopol causaram diminuição nos valores de microdureza do esmalte e dentina, sugerindo uma contínua desmineralização dessas estruturas em pH neutro<sup>(2)</sup>. Autores compararam os efeitos de dois agentes clareadores a base de peróxido de carbamida a 10% com e sem carbopol sobre o esmalte dental. Foi



detectada uma significativa diminuição na microdureza do esmalte superficial tratado com agente clareador com carbopol, em uma profundidade de até 25  $\mu\text{m}$ <sup>(50)</sup>.

As inúmeras pesquisas encontradas na literatura divergem quanto à presença e ao grau das alterações estruturais e mecânicas observadas na estrutura dental clareada. Em virtude disso, a presente pesquisa foi desenvolvida com intuito de investigar, através de análise ultra-estrutural (análise a nível nanométrico) e ensaio de microdureza, as possíveis alterações causadas na estrutura dental pelo uso de agentes clareadores convencionais e outros clareadores lançados recentemente no mercado, com novas substâncias incorporadas às suas fórmulas, bem como investigar o efeito de um gel remineralizante à base de fosfato e cálcio sobre a estrutura dental.

### **3 PROPOSIÇÃO**

O objetivo deste trabalho é avaliar, através de análise ultra-estrutural e teste de microdureza, a influência de um gel remineralizante e de cinco géis clareadores sobre o esmalte e a dentina de dentes humanos.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Esta pesquisa foi realizada no laboratório do Departamento de Materiais Dentários e no laboratório do Departamento de Minas e Petróleo da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

### **4.1 Seleção dos dentes e preparo dos espécimes**

Após aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP (FR-184925, protocolo 77/2008) (Anexo A), foram examinados com lupa (25 aumentos) molares humanos hígidos. Após isso, foram selecionados dez molares livres de cárie, trincas e defeitos estruturais (fornecidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da USP). Posteriormente, os dentes foram limpos com ultrassom e profilaxia de pedra-pomes/água. Para todos os grupos, a solução de armazenagem foi água destilada a 37°C.

O seccionamento dos dentes (Figura 4.1) foi realizado com disco diamantado dupla-face sob constante refrigeração, em uma máquina de cortes IsoMet 1000 - Buehler. O primeiro corte foi feito no sentido transversal, à altura do terço médio da coroa. Em seguida foram feitos cortes longitudinais na coroa, com objetivo de dividi-la em sete fatias. Como pode ser observado na figura 4.1, foram retiradas sete fatias de cada coroa, sendo seis experimentais e uma controle. Desta forma, em um mesmo dente foi possível aplicar os diferentes materiais, sendo cada material em

uma fatia, e ainda obter uma fatia controle do mesmo dente. Essa metodologia de corte permitiu uma padronização em relação à textura superficial, orientação dos primas de esmalte, bem como da quantidade, tamanho e orientação dos túbulos dentinários.

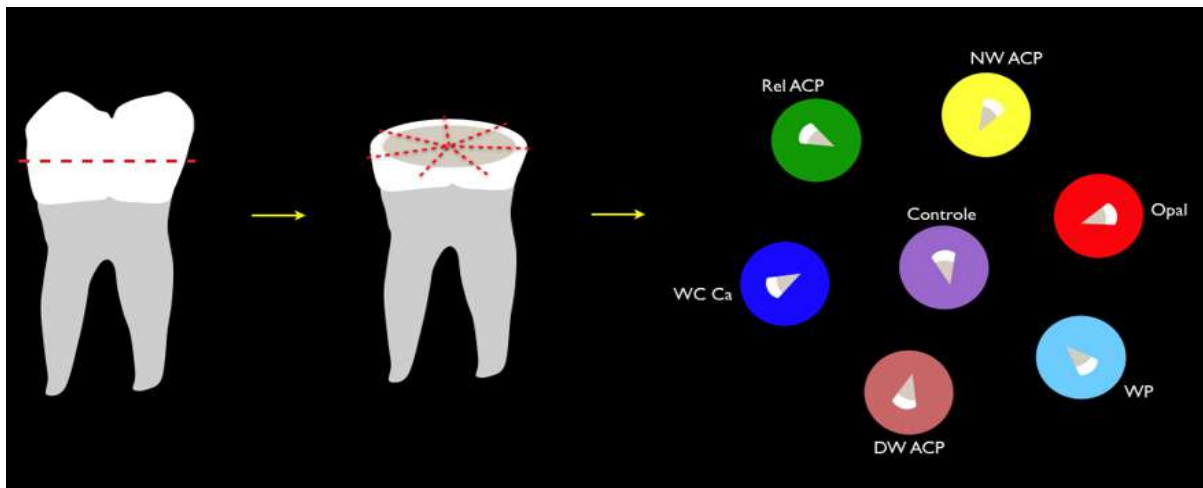


Figura 4.1- Desenho esquemático de um molar ilustrando como foram realizados os cortes para obtenção dos espécimes







Após o corte dos dentes, os espécimes foram embutidos em resina acrílica autopolimerizável incolor (Jet-Clássico), como pode ser observado na figura 4.2. Depois de aguardar 1 hora para total polimerização da resina, cada fatia foi lixada, permitindo a obtenção de espécimes com uma superfície polida. Esse procedimento foi realizado em uma polítrix com rotação de 250 RPM (Knuth Rotor, Struers, Dinamarca), utilizando lixas d'água de carbeto de silício com granulações de 400, 600, 800, 1.200, 1.500, 2.000 e 4.000, sob refrigeração. Após a troca de cada lixa, os espécimes eram lavados em água corrente e colocados em ultrassom com frequência de 40 kHz e potência de 81 W (Ultrasonic Cleaner, USC 1400), durante 5 minutos, sendo que após o uso da lixa 2.000 e da lixa 4.000 os espécimes ficaram imersos em água destilada e ultrassom por 20 minutos. A seguir, os espécimes

foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas. O polimento dos espécimes serviu para finalizar a padronização das superfícies de esmalte e dentina a serem tratadas com os diferentes géis, assim como do controle.

Após 24 horas de armazenagem, os espécimes experimentais receberam tratamento remineralizador, grupo Rel ACP (gel remineralizante Relief ACP – Discus Dental) ou tratamento clareador, grupos NW ACP (gel clareador Nite White ACP – Discus Dental), Opal (gel clareador Opalescence PF – Ultradent), WP (gel clareador Whiteness Perfect - FGM), DW ACP (gel clareador Day White ACP – Discus Dental) e WC Ca (gel clareador White Class Ca), como pode ser observado no quadro 4.1. Os espécimes do grupo controle (GC) ficaram armazenados em água destilada a 37°C durante todo o experimento.



Figura 4.2- Espécimes embutidos em resina acrílica, lixados e polidos

Grupos experimentais	Imagem dos produtos	Substâncias (tipo)	Fabricante	Composição básica
Rel ACP		Relief ACP (gel remineralizante)	Discus Dental	Nitrato de Potássio + Flúor + Cálcio + Fosfato
NW ACP		Nite White ACP (gel clareador)	Discus Dental	Peróxido de Carbamida 16% + Nitrato de Potássio + Cálcio + Fosfato
Opal		Opalescence PF (gel clareador)	Ultradent	Peróxido de Carbamida 15% + Nitrato de Potássio + Flúor
WP		Whiteness Perfect (gel clareador)	FGM	Peróxido de Carbamida 16% + Nitrato de Potássio + Flúor
DW ACP		Day White ACP	Discus Dental	Peróxido de Hidrogênio 7,5% + Nitrato de Potássio + Cálcio + Fosfato
WC Ca		White Class Ca	FGM	Peróxido de Hidrogênio 7,5% + Nitrato de Potássio + Flúor + Cálcio

Quadro 4.1- Grupos experimentais, imagem dos produtos, substâncias, fabricante e composição básica dos géis

## 4.2 Medição de pH dos géis

Antes da aplicação dos diferentes géis, eles tiveram o grau de acidez medido com um pHâmetro digital da marca DIGIMED, modelo DM-20, com margem de erro relativo de 0,05%. O aparelho foi calibrado com duas soluções tampão representadas por pH=7 e pH=4. Em seguida cada gel foi colocado dentro de um recipiente de vidro para leitura no aparelho. As medições do pH do gel remineralizador (grupo Rel ACP) foram feitas em três “tempos”: inicial (tempo zero), após 15 minutos e após 30 minutos. Para os grupos NW ACP, Opal e WP (tratamento clareador), as leituras foram realizadas em sete “tempos”: inicial (tempo zero), após 15 minutos, após 30 minutos, após 1, 2, 3 e 4 horas e, para os grupos DW ACP e WC Ca (tratamento clareador), foram feitas 4 leituras: inicial (tempo zero), após 15 minutos, 30 minutos e 1 hora. Foram feitos diferentes “tempos” de leitura, em virtude da variação do tempo total de aplicação de cada produto (de acordo com o preconizado pelos fabricantes).

## 4.3 Aplicação dos géis

Os géis foram aplicados na superfície dos espécimes experimentais (em esmalte e em dentina) em uma camada de aproximadamente 0,5 mm de espessura (Figura 4.3). Para o grupo Rel ACP (tratamento remineralizador), o gel permaneceu

sobre a estrutura dental por 30 minutos (1 ciclo). Já para os clareadores, o gel permaneceu em contato com os espécimes diariamente por 4 horas consecutivas (grupos NW ACP, Opal e WP), o que corresponde a um ciclo, e 1 hora consecutiva (grupos DW ACP e WC Ca), um ciclo. Os géis foram aplicados de acordo com o tempo recomendado pelos seus respectivos fabricantes. Após a conclusão do período de aplicação dos géis, os mesmos foram removidos com gaze e os espécimes foram lavados com jato ar/água. Após cada ciclo de tratamento, os espécimes ficaram imersos em água destilada e eram armazenados em estufa a 37°C por 24 horas. Esse procedimento foi realizado ao longo de quatorze dias consecutivos. O tempo total de armazenagem (em água destilada a 37°C) dos espécimes foi de 21 dias, sendo 14 dias decorrentes do tempo de tratamento remineralizador ou clareador e mais 7 dias de armazenagem após a finalização do tratamento.

Cada grupo experimental era composto por dez fatias, sendo cada fatia proveniente de um dente. Destas fatias, cinco serviram para a análise microestrutural e as outras cinco foram utilizadas para o teste de microdureza. Para a análise ultra-estrutural, foi utilizado um grupo controle composto por 5 fatias (Figura 4.4).



Figura 4.3- Gel aplicado na superfície de um espécime



Para melhor compreensão da metodologia que envolve a análise ultra-estrutural e o teste de microdureza, observar o organograma a seguir (Figura 4.4).

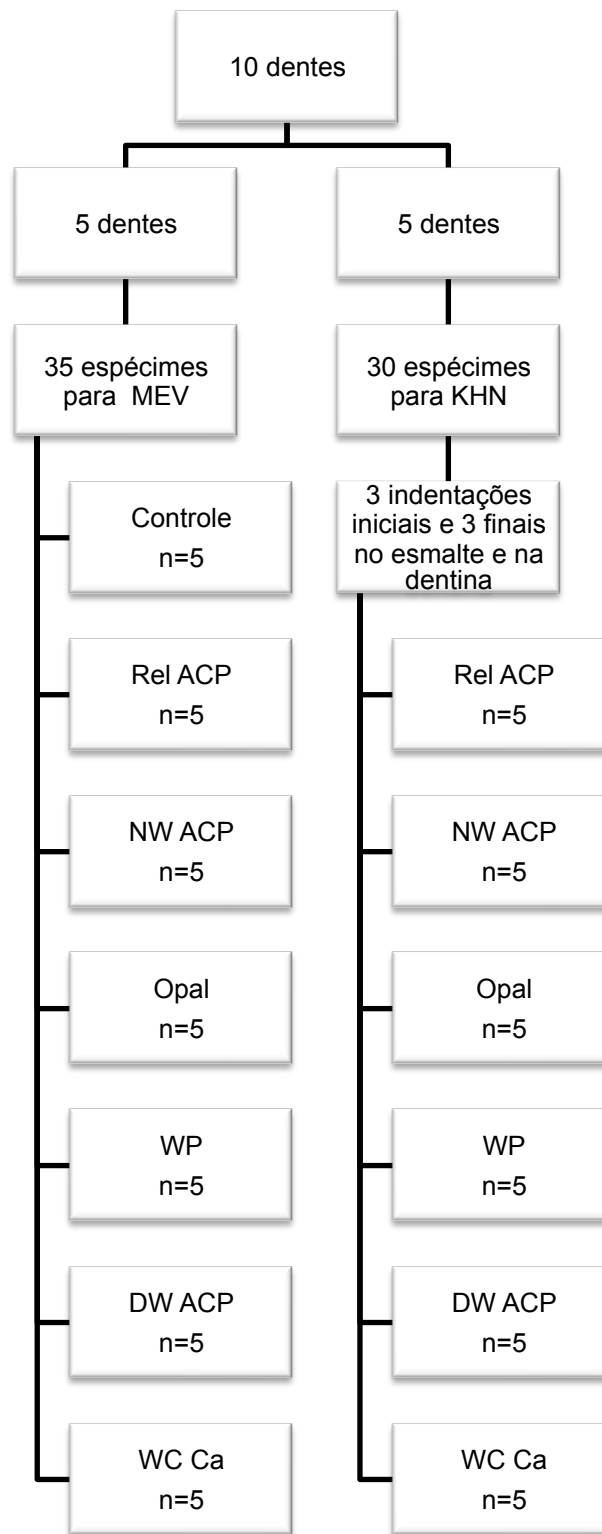


Figura 4.4- Organograma da análise ultra-estrutural e do ensaio de microdureza Knoop

#### **4.4 Análise ultra-estrutural**

Após a conclusão do tratamento remineralizador (grupo Rel ACP) e clareador (grupos NW ACP, Opal, WP, DW ACP e WC Ca), os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C por mais 7 dias e posteriormente, preparados para microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo.

##### **4.4.1 Preparo dos espécimes para análise ultra-estrutural**

Os espécimes foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% e cacodilato de sódio 0,1 M tamponada em pH 7,4 por 12 horas e, em seguida, colocados em solução de cacodilato de sódio 0,2 M tamponado em pH 7,4 por um total de 60 minutos (três banhos de 20 minutos cada). Após esse período, os espécimes foram desidratados em escala de concentração ascendente de etanol, ficando em contato com soluções de etanol a 25%, 50% e 75% por 20 minutos cada; 30 minutos a 95% e 60 minutos a 100%. A secagem química final foi realizada por meio de imersão em HMDS (Hexamethyldisilazane, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, EUA) por 10 minutos e, para evaporação dessa substância, os espécimes foram deixados em temperatura ambiente dentro de uma capela de exaustão por 2 horas. Em seguida, os espécimes foram colocados em um porta-amostra e armazenados em um dessecador por 24 horas. Posteriormente, foram metalizados com uma camada de ouro de 15 nm.

Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FEG) modelo JEOL JSM-7600F, equipado com janela de Be e analisador multicanal Q500 da IXRF, utilizando software próprio. As imagens foram obtidas com aceleração de voltagem de 15 kV.

Neste estudo, foram analisados, através de FEG, o esmalte, a dentina tubular e a dentina intertubular de cada espécime. Para tal, foi elaborado um álbum com imagens de dentina tubular em 20.000x, dentina intertubular em 50.000x e esmalte em 50.000x, sendo que, para cada imagem de 50.000x em esmalte, foi inserida uma imagem auxiliar de 100.000x para observação detalhada dos cristais.

As alterações observadas nas imagens de microscopia podem ser consideradas como uma variável qualitativa, e seus estágios podem ser classificados em escala ordinal, representada por escores (números inteiros). Desta forma, foram selecionados três avaliadores previamente calibrados (com bom índice de concordância) para fazerem a análise das imagens presentes no álbum descrito acima. Cada avaliador atribuiu um escore para cada imagem observada, classificando-a de acordo com os parâmetros observados nos quadros 4.2 e 4.3. Para análise de concordância entre os avaliadores, foi utilizado o teste W de Kendall. Após a classificação das imagens, foi realizada análise estatística dos dados através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

<b>Grau das alterações</b>	<b>Esmalte</b>
<b>1</b>	Superfície uniforme sem possibilidade de observação de cristais
<b>2</b>	Superfície uniforme com observação de cristais compactados
<b>3</b>	Presença de fendas sem aumento dos espaços intercristalinos
<b>4</b>	Aumento dos espaços intercristalinos e presença de fendas

Quadro 4.2- Grau das alterações no esmalte

<b>Grau das alterações</b>	<b>Dentina Tubular</b>	<b>Dentina Intertubular</b>
<b>-2</b>	Túbulos dentinários totalmente obstruídos	Área totalmente lisa
<b>-1</b>	75% dos túbulos dentinários obstruídos	Área lisa
<b>0</b>	50% dos túbulos dentinários obstruídos	Superfície discretamente porosa
<b>1</b>	25% dos túbulos dentinários obstruídos	Aumento dos espaços intercristalinos
<b>2</b>	Túbulos dentinários totalmente abertos	Superfície mais porosa quando comparada ao padrão 1 (dentina intertubular) e observação de fibras colágenas

Quadro 4.3- Grau das alterações da dentina tubular e intertubular

#### 4.5 Teste de microdureza

Nesta pesquisa, foi utilizado um teste de microdureza desenvolvido pela National Bureau of Standards (NBS-USA), em 1939, chamado de microdureza Knoop. Nesse teste é utilizado um indentador de pirâmide alongada (Figura 4.5) que apresenta uma relação comprimento: largura: profundidade de aproximadamente 30: 4 :1<sup>(139)</sup>.

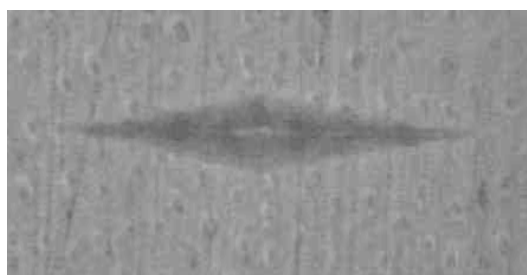


Figura 4.5- Marca da penetração Knoop em dentina obtida no presente estudo.

O equipamento utilizado foi um microdurômetro, modelo HMV-2 da marca Shimadzu, com carga estática de 100 gramas aplicada por 30 segundos para esmalte e carga de 25 gramas por 30 segundos para a dentina<sup>(139)</sup>.

Foram realizadas 6 indentações em esmalte (Figura 4.6), sendo 3 iniciais (antes do tratamento remineralizador ou clareador) e 3 finais (após 24 horas de finalizado o tratamento) e mais 6 em dentina (3 iniciais e 3 finais) em cada fatia.

Com esse procedimento, foram obtidos valores de microdureza tanto para esmalte e dentina controle (inicial), quanto para esmalte e dentina remineralizados (grupo Rel ACP) ou clareados (grupos NW ACP, Opal, WP, DW ACP e WC Ca). Desta forma, foi possível fazer uma comparação direta da mesma estrutura dental,

antes e após a aplicação dos diferentes géis no que diz respeito ao ensaio de microdureza.

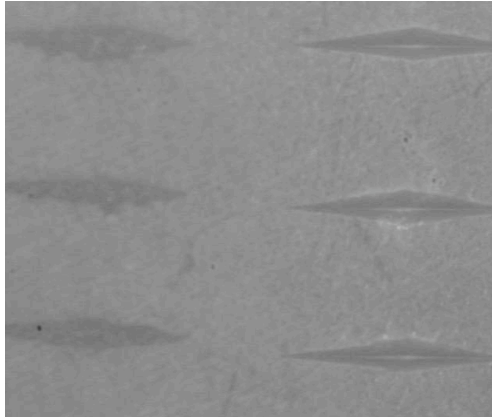


Figura 4.6- Três indentações iniciais (esquerda) e três indentações finais (direita)

## 5 RESULTADOS

### 5.1 pH dos géis

O grau de acidez de todos os géis foi medido em diferentes “tempos”, como pode ser observado na tabela 5.1 e figura 5.1.

Tabela 5.1- Valores de pH dos géis em diferentes "tempos"

"tempos"	Géis					
	Rel ACP	NW ACP	Opal	WP	DW ACP	WC Ca
0	6,9	5,3	6,4	5,9	8,8	6,2
15 min	7,1	4,6	6,3	5,8	8,7	6
30 min	7	4,6	6,2	5,7	8,8	6
1h	–	4,5	6,2	5,7	8,4	5,9
2h	–	4,5	6,2	5,7	–	–
3h	–	4,5	6,2	5,7	–	–
4h	–	4,5	6,2	5,7	–	–

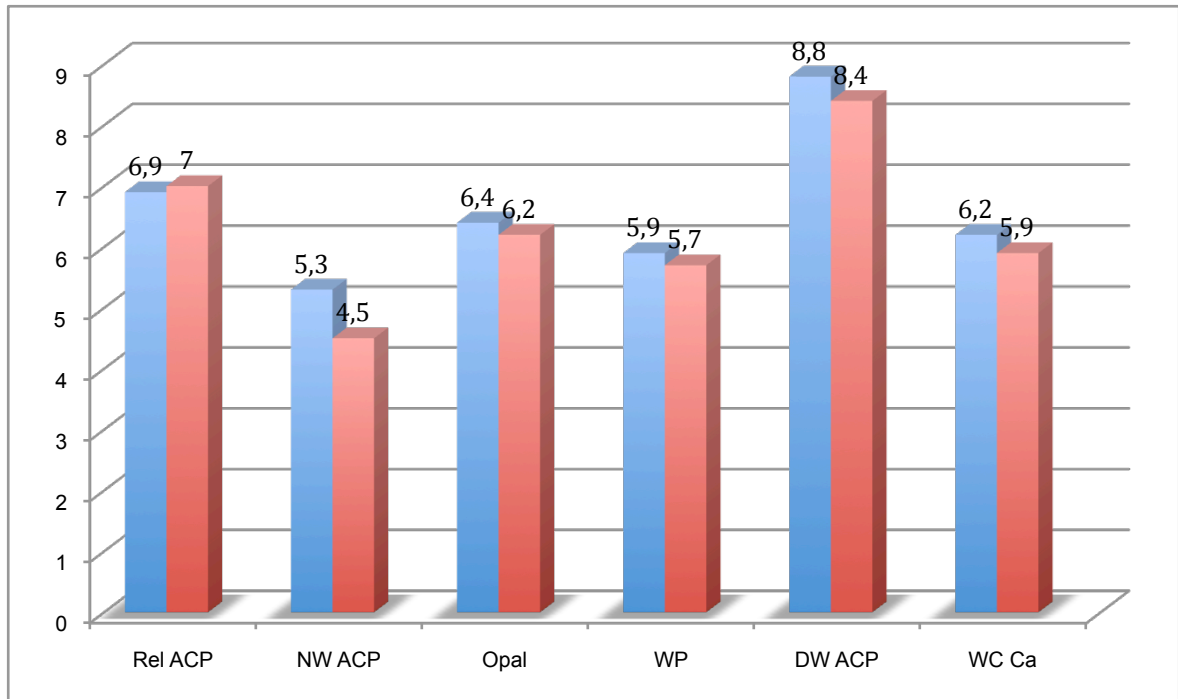


Figura 5.1- Valor inicial e final do pH dos géis

## 5.2 Análise ultra-estrutural

Os escores referentes aos graus de alteração encontrados em esmalte, dentina tubular e dentina intertubular atribuídos por três avaliadores previamente calibrados foram submetidos à análise de concordância, por meio do teste W de Kendall. Os resultados da aplicação desse teste mostraram concordância altamente significativa entre os avaliadores (95%). A distribuição amostral revelou dados não-normais, indicando a realização do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação das médias entre as sete condições experimentais no esmalte, dentina tubular e dentina intertubular.



A análise estatística através do teste de Kruskal-Wallis e as imagens referentes ao esmalte, dentina tubular e intertubular de cada grupo podem ser observadas a seguir.

Tabela 5.2- Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a média dos postos das 7 condições experimentais em esmalte, realizadas ao nível de significância de 0,1%

Teste de Kruskal-Wallis	
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado	24,8649
Valor do $X^2$ para os 6 graus de liberdade	24,86
Probabilidade de $H_0$ para esse valor	0,04%

Tabela 5.3- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em esmalte

Comparação entre os grupos	Diferença dos postos	Diferença entre os grupos
NW ACP x Opal	14,6	s
NW ACP x Rel ACP	2,2	n.s
NW ACP x WP	13,3	s
NW ACP x DW	4,4	n.s
NW ACP x WC	16,5	s
NW ACP x Controle	0	n.s
Opal x Rel ACP	16,8	s
Opal x WP	1,3	n.s
Opal x DW ACP	19	s
Opal x WC Ca	1,9	n.s

continua

conclusão

Tabela 5.3- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em esmalte

Opal x Controle	14,6	s
Rel ACP x WP	15,5	s
Rel ACP x DW ACP	2,2	n.s
Rel ACP x WC Ca	18,7	s
Rel ACP x Controle	2,2	n.s
WP x DW ACP	17,7	s
WP x WC Ca	3,2	n.s
WP x Controle	13,3	s
DW ACP x WC Ca	20,9	s
DW ACP x Controle	4,4	n.s
WC Ca x Controle	16,5	s

significante (s)=  $p < 0,01$ ; não significante (n.s)=  $p > 0,01$

Tabela 5.4- Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a média dos postos das 7 condições experimentais em dentina tubular, realizadas ao nível de significância de 0,1%

Teste de Kruskal-Wallis	
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado	30,6206
Valor do $X^2$ para os 6 graus de liberdade	30,62
Probabilidade de $H_0$ para esse valor	0,00%

Tabela 5.5- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em dentina tubular

Comparação entre os grupos	Diferença dos postos	Diferença entre os grupos
NW ACP x Opal	19,8	s
NW ACP x Rel ACP	0	n.s
NW ACP x WP	16,9	s
NW ACP x DW	0	n.s
NW ACP x WC	18,6	s
NW ACP x Controle	4,2	n.s
Opal x Rel ACP	19,8	s
Opal x WP	2,9	n.s
Opal x DW ACP	19,8	s
Opal x WC Ca	1,2	n.s
Opal x Controle	15,6	s
Rel ACP x WP	16,9	s
Rel ACP x DW ACP	0	n.s
Rel ACP x WC Ca	18,6	s
Rel ACP x Controle	4,2	n.s
WP x DW ACP	16,9	s
WP x WC Ca	1,7	n.s
WP x Controle	12,7	s
DW ACP x WC Ca	18,6	s

continua

conclusão

Tabela 5.5- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em dentina tubular

DW ACP x Controle	4,2	n.s
WC Ca x Controle	14,4	s

significante (s)=  $p < 0,01$ ; não significante (n.s)=  $p > 0,01$

Tabela 5.6- Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a média dos postos das 7 condições experimentais em dentina intertubular, realizadas ao nível de significância de 0,1%

Teste de Kruskal-Wallis	
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado	23,0318
Valor do $X^2$ para os 6 graus de liberdade	23,03
Probabilidade de $H_0$ para esse valor	0,08%

Tabela 5.7- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em dentina intertubular

Comparação entre os grupos	Diferença dos postos	Diferença entre os grupos
NW ACP x Opal	16,8	s
NW ACP x Rel ACP	1,4	n.s
NW ACP x WP	15,8	s
NW ACP x DW	4	n.s
NW ACP x WC	1,7	n.s
NW ACP x Controle	1,7	n.s
Opal x Rel ACP	15,4	s
Opal x WP	1	n.s
Opal x DW ACP	20,8	s

continua

conclusão

Tabela 5.7- Comparação (dois a dois) entre as 7 condições experimentais em dentina intertubular

Opal x WC Ca	18,5	s
Opal x Controle	18,5	s
Rel ACP x WP	14,4	s
Rel ACP x DW ACP	5,4	n.s
Rel ACP x WC Ca	3,1	n.s
Rel ACP x Controle	3,1	n.s
WP x DW ACP	19,8	s
WP x WC Ca	17,5	s
WP x Controle	17,5	s
DW ACP x WC Ca	2,3	n.s
DW ACP x Controle	2,3	n.s
WC Ca x Controle	0	n.s

significante (s)=  $p < 0,01$ ; não significante (n.s)=  $p > 0,01$

### 5.2.1 Esmalte controle

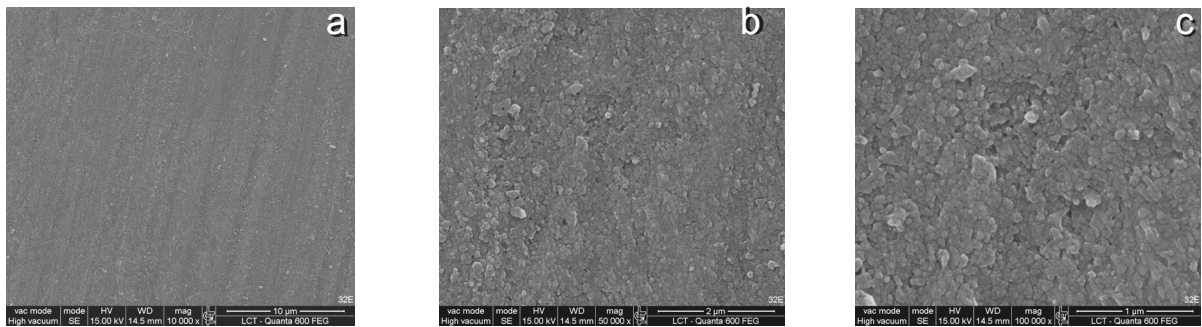


Figura 5.2- Esmalte controle, aumento de 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)

### 5.2.2 Esmalte tratado com Relief ACP

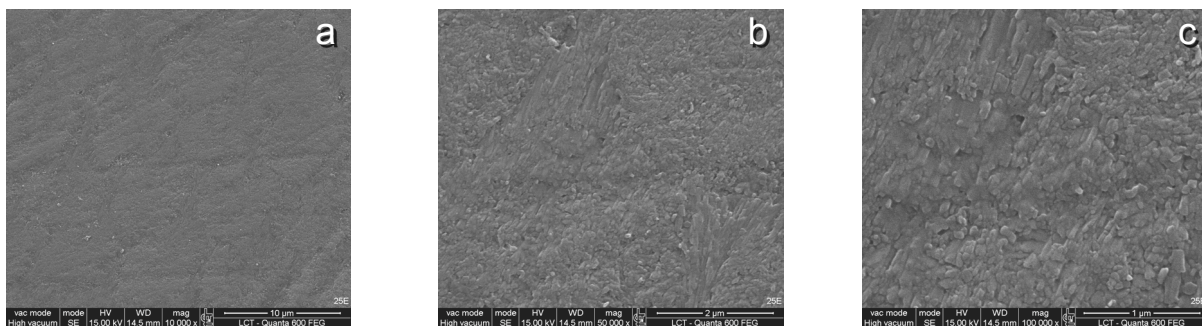


Figura 5.3- Esmalte tratado com Relief ACP, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)

### 5.2.3 Esmalte tratado com Nite White ACP

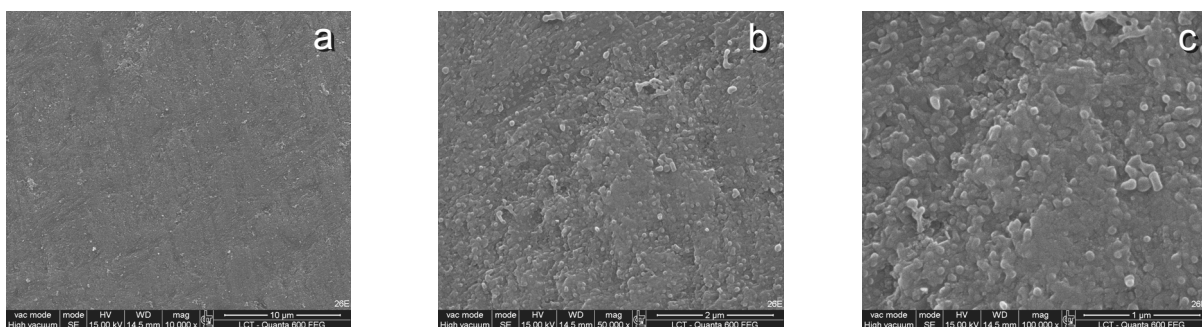


Figura 5.4- Esmalte tratado com Nite White ACP, 10.000x (a), 50.000 (b) e 100.000x (c)

### 5.2.4 Esmalte tratado com Opalescence PF

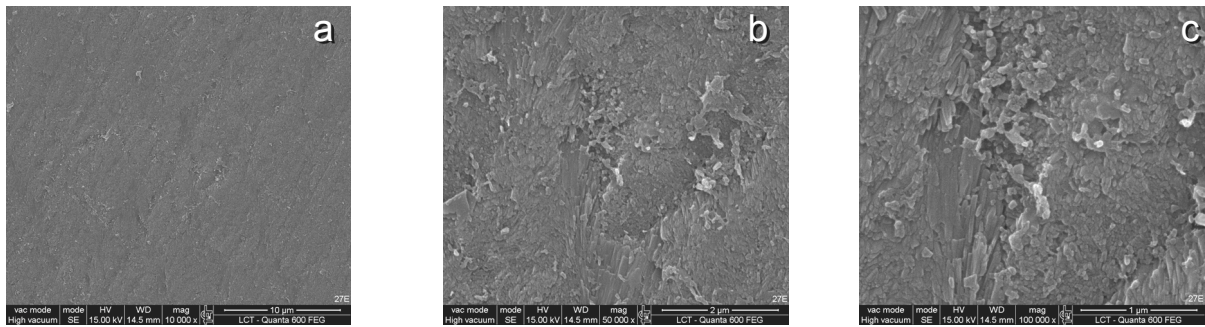


Figura 5.5- Esmalte tratado com Opalescence PF, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)

### 5.2.5 Esmalte tratado com Whiteness Perfect

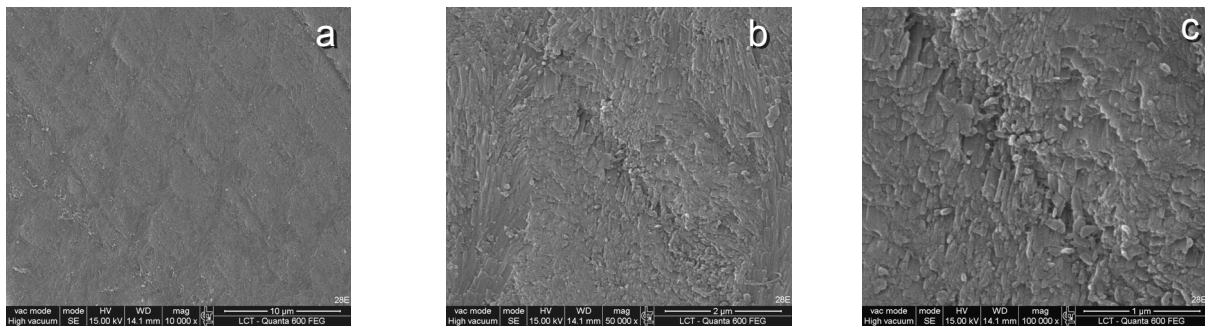


Figura 5.6- Esmalte tratado com Whiteness Perfect, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)

### 5.2.6 Esmalte tratado com Day White ACP

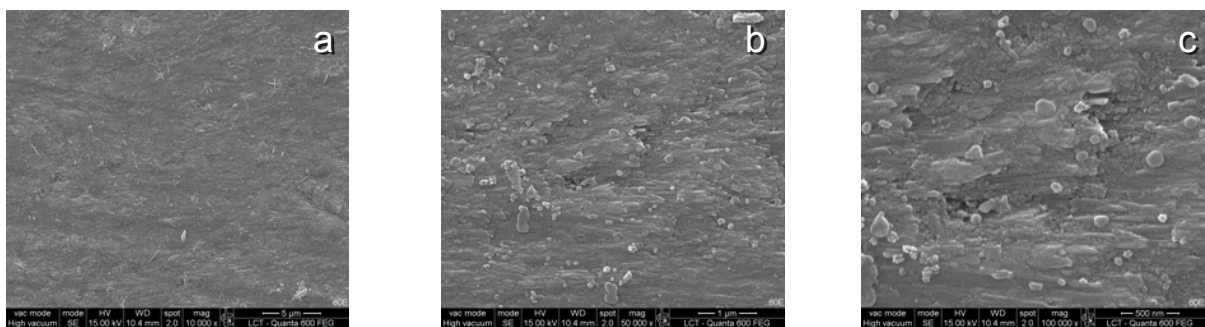


Figura 5.7- Esmalte tratado com Day White ACP, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)

### 5.2.7 Esmalte tratado com White Class Ca

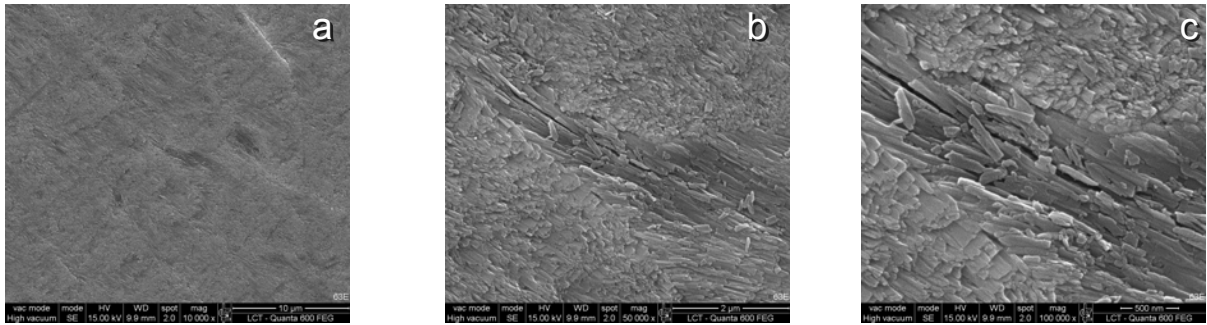


Figura 5.8- Esmalte tratado com White Class Ca, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)

### 5.2.8 Dentina tubular controle

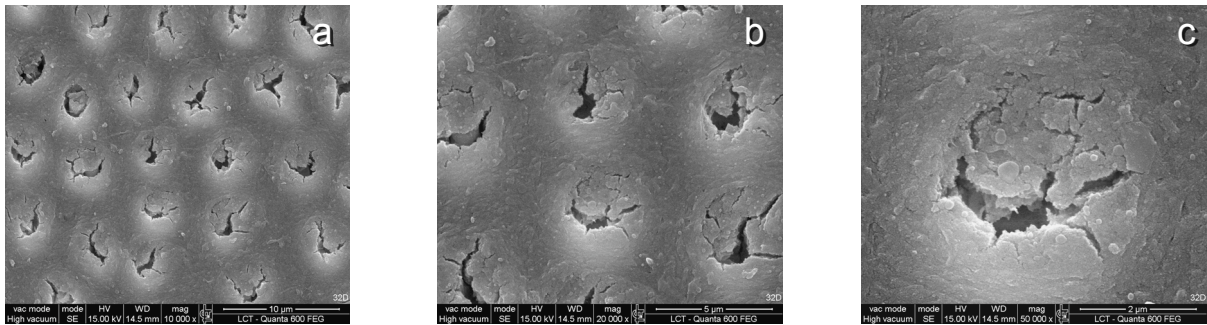


Figura 5.9- Dentina tubular do grupo controle, aumento de 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000x (c)

### 5.2.9 Dentina intertubular controle

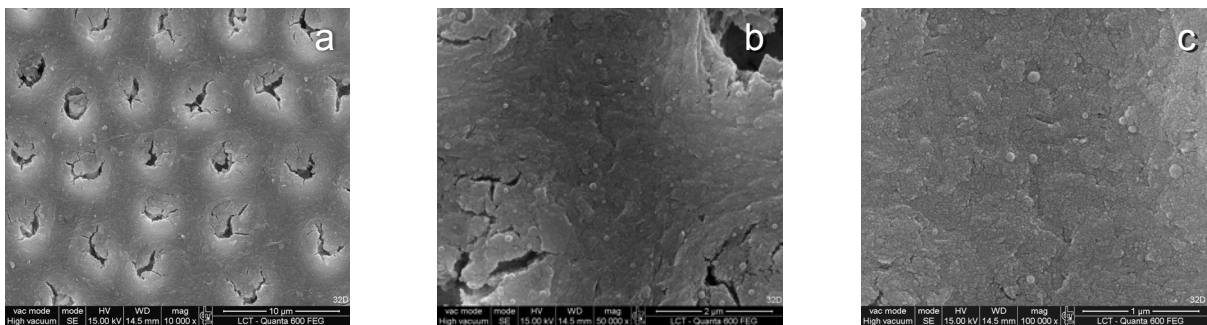


Figura 5.10- Dentina intertubular do grupo controle, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000x (c)



### 5.2.10 Dentina tubular tratada com Relief ACP

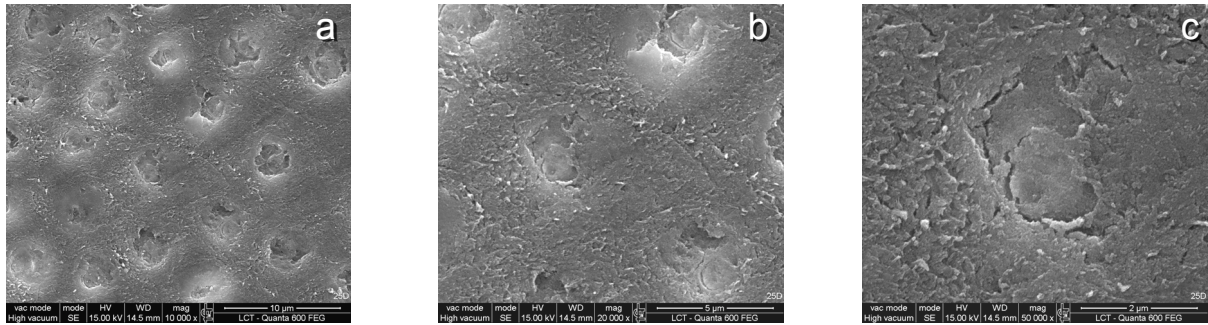


Figura 5.11- Dentina tubular tratada com Relief ACP, 10.000x (a), 20.000 (b) e 100.000x (c)

### 5.2.11 Dentina intertubular tratada com Relief ACP

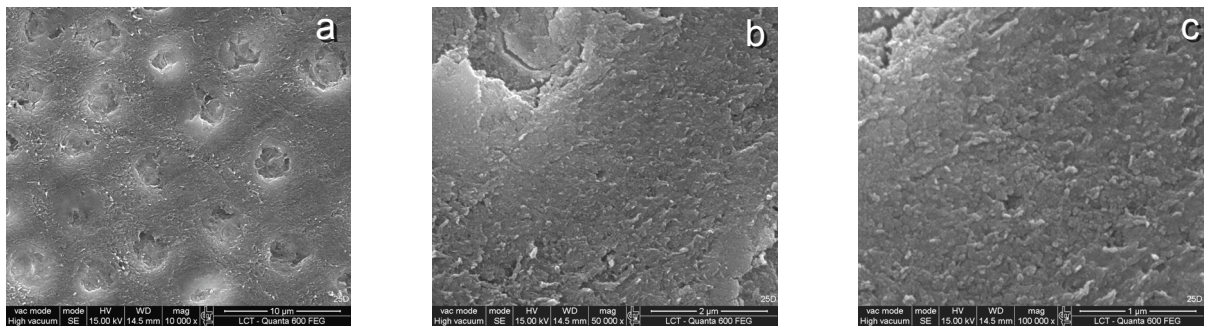


Figura 5.12- Dentina intertubular tratada com Relief ACP, 10.000x (a), 50.000 (b) e 100.000x (c)

### 5.2.12 Dentina tubular tratada com Nite White ACP

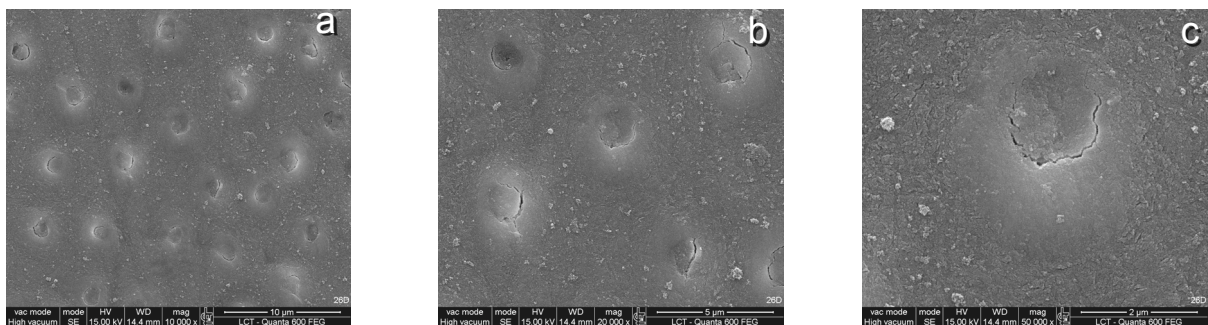


Figura 5.13- Dentina tubular tratada com Nite White ACP, 10.000x (a), 20.000 (b) e 50.000x (c)

### 5.2.13 Dentina intertubular tratada com Nite White ACP

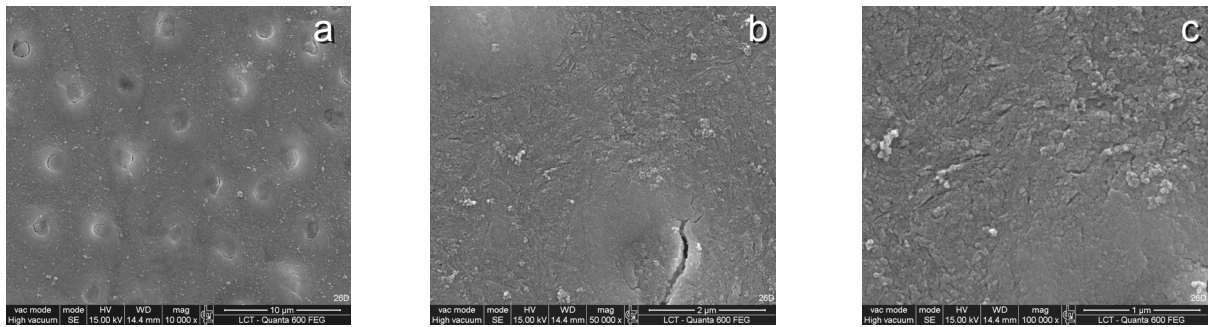


Figura 5.14- Dentina intertubular tratada com Nite White ACP, 10.000x (a), 50.000 (b) e 100.000x (c)

### 5.2.14 Dentina tubular tratada com Opalescence PF

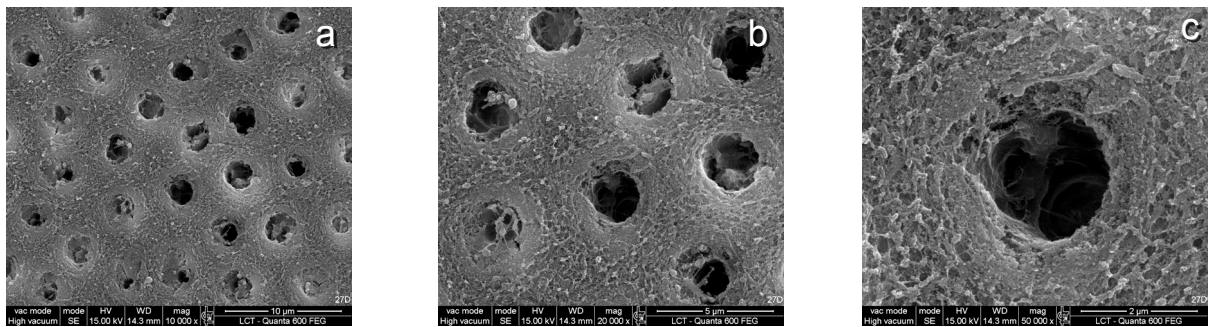


Figura 5.15- Dentina tubular tratada com Opalescence PF, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c)

### 5.2.15 Dentina intertubular tratada com Opalescence PF

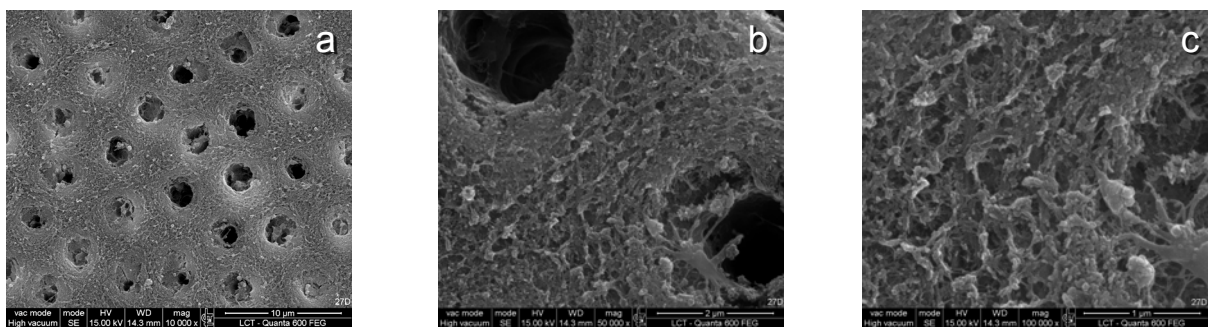


Figura 5.16- Dentina intertubular tratada com Opalescence PF, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c)

### 5.2.16 Dentina tubular tratada com Whiteness Perfect

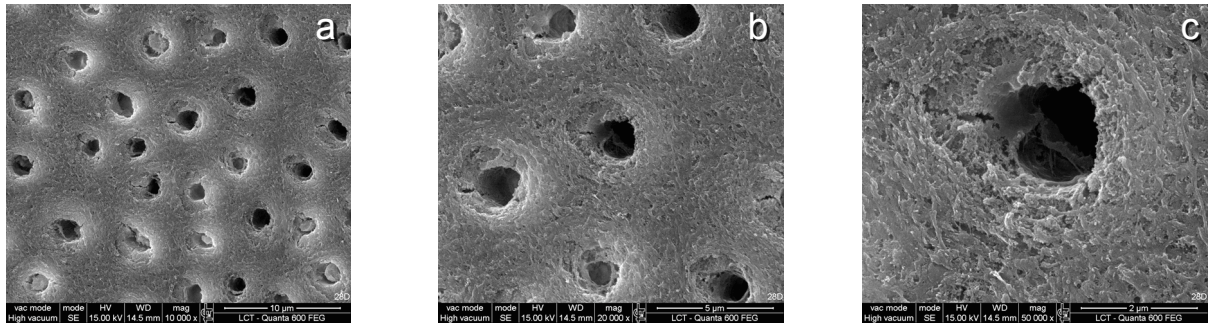


Figura 5.17- Dentina tubular tratada com Whiteness Perfect, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c)

### 5.2.17 Dentina intertubular tratada com Whiteness Perfect

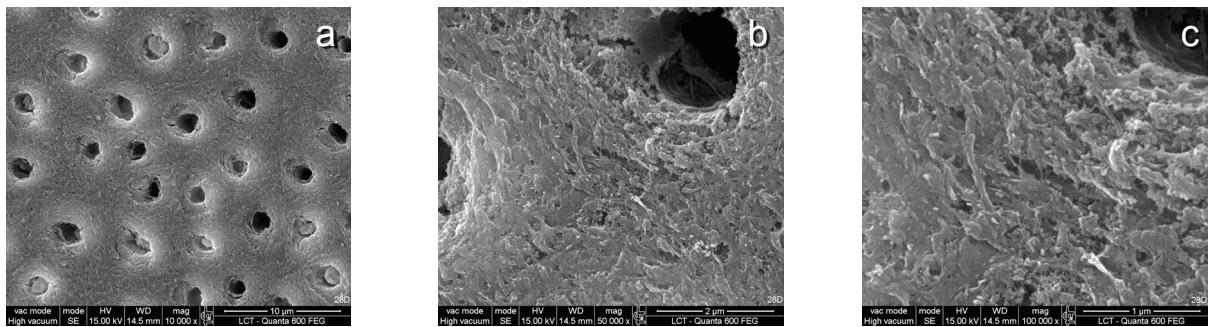


Figura 5.18- Dentina intertubular tratada com Whiteness Perfect, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c)

### 5.2.18 Dentina tubular tratada com Day White ACP

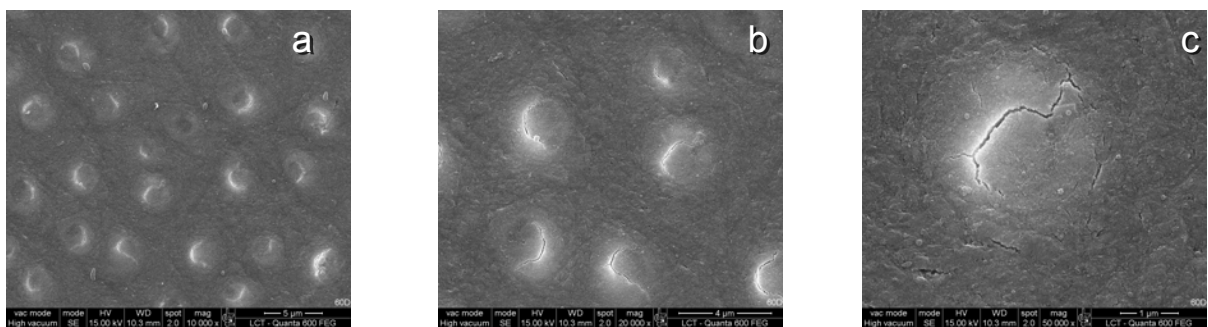


Figura 5.19- Dentina tubular tratada com Day White ACP, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c)

### 5.2.19 Dentina intertubular tratada com Day White ACP

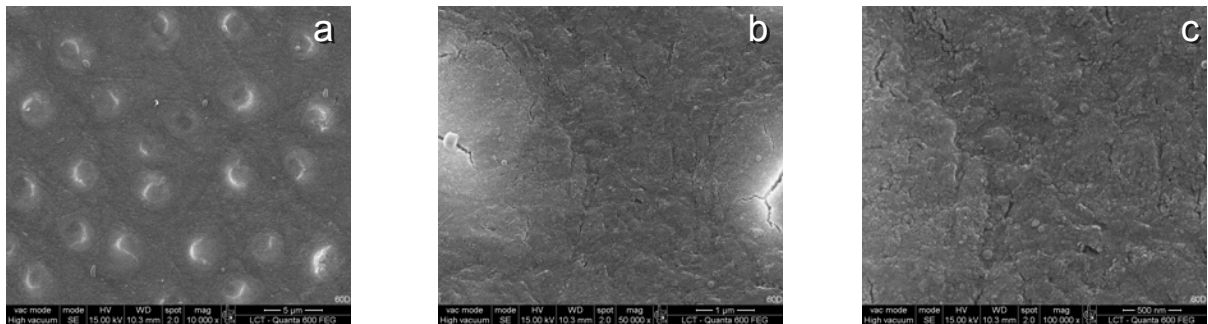


Figura 5.20- Dentina intertubular tratada com Day White ACP, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c)

### 5.2.20 Dentina tubular tratada com White Class Ca

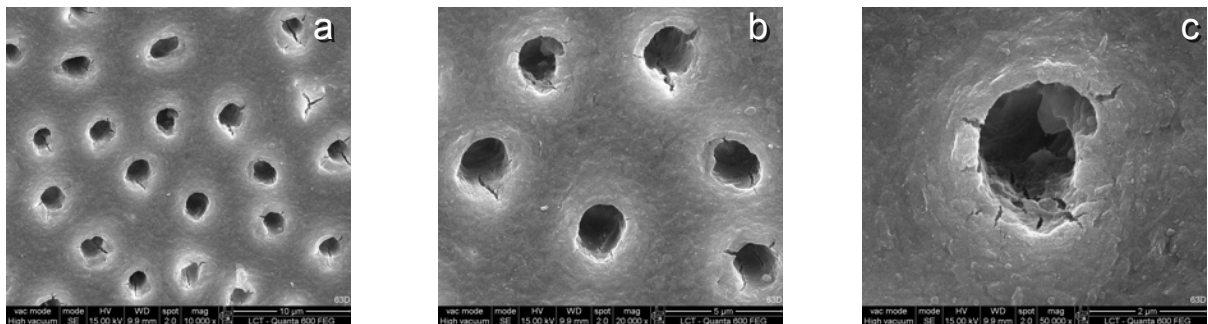


Figura 5.21- Dentina tubular tratada com White Class Ca, 10.000x (a), 20.000x (b) e 50.000 (c)

### 5.2.21 Dentina intertubular tratada com White Class Ca

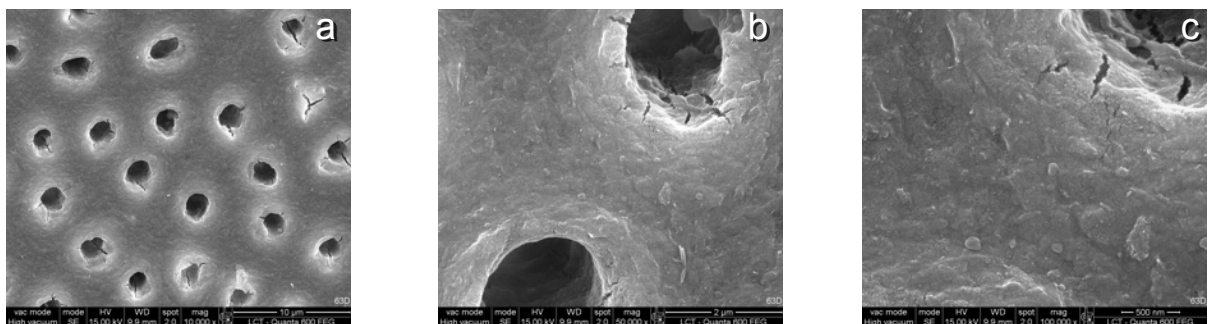


Figura 5.22- Dentina intertubular tratada com White Class Ca, 10.000x (a), 50.000x (b) e 100.000 (c)

### 5.3 Microdureza Knoop

Para a análise estatística dos valores de microdureza inicial e final, tanto em esmalte quanto em dentina, foi aplicado o teste t-student pareado à nível de significância de 95%.

As tabelas 5.2 e 5.3 e figuras 5.23 e 5.26 apresentam as médias e o desvio-padrão dos valores de microdureza Knoop (KHN) inicial e final para os grupos estudados, tanto em esmalte quanto em dentina. Com a aplicação do teste, pôde constatar-se que:

- não houve diferença estatisticamente significativa entre KHN inicial e final para os grupos Rel ACP, NW ACP e DW ACP, tanto em esmalte, quanto em dentina ( $p > 0,05$ ).
- para os grupos Opal, WP e WC Ca houve redução estatisticamente significativa dos valores de KHN nos dois substratos (esmalte e dentina) ( $p < 0,05$ ).

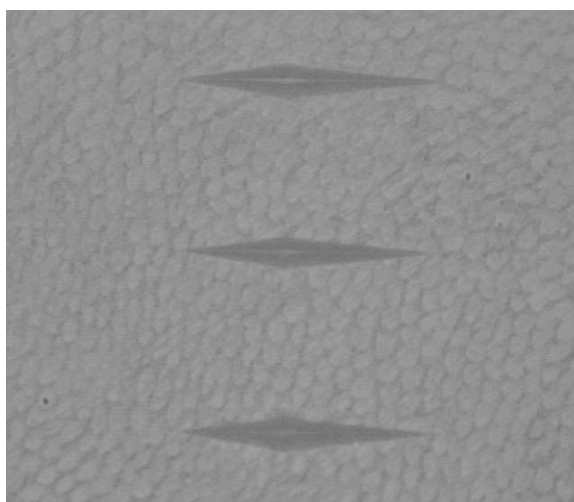


Figura 5.23- Exemplo de indentações obtidas em esmalte, aumento de 400x

Tabela 5.8- Média e desvio-padrão inicial e final dos valores de microdureza Knoop (KHN) para o esmalte e probabilidade de KHN ( $p$  KHN)

Grupo	Inicial	Final	$p$ (KHN)
Rel ACP	310,1 (11,7)	314,8 (8,6)	0,153
NW ACP	313,8 (14,7)	315,7 (16,0)	0,405
Opal	308,9 (15,5)	278,5 (12,8)	0,028
WP	316,8 (8,0)	291,2 (12,9)	0,007
DW ACP	320,7 (10,4)	316,2 (6,6)	0,539
WC Ca	315,7 (10,3)	289,7 (6,0)	0,013

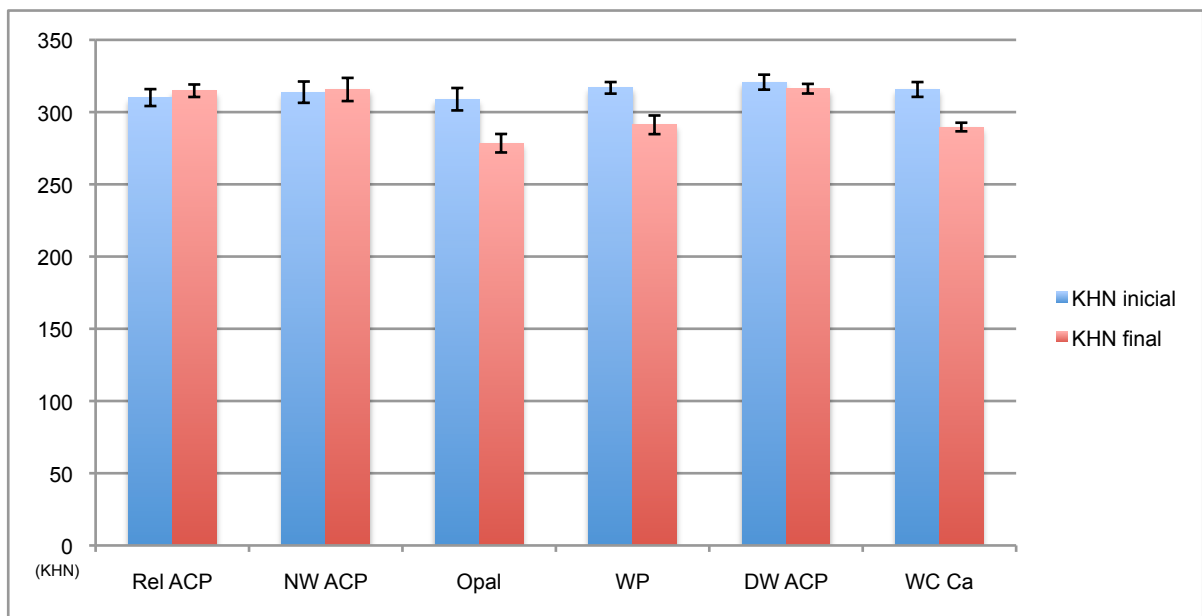


Figura 5.24- Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em esmalte, após aplicação dos diferentes géis

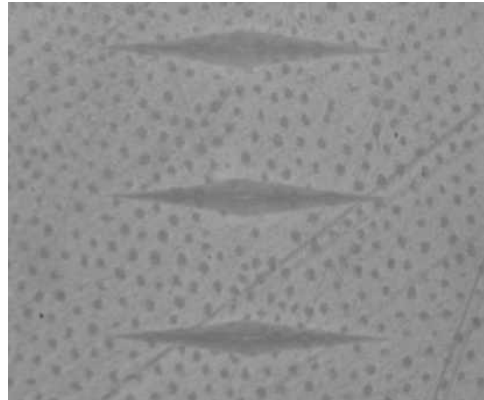


Figura 5.25- Exemplo de indentações obtidas em dentina, aumento de 400x

Tabela 5.9- Média e desvio-padrão inicial e final dos valores de microdureza Knoop (KHN) para a dentina e probabilidade de KHN ( $p$  KHN)

Grupo	Inicial	Final	$p$ KHN
Rel ACP	48,9 (4,20)	46,5 (2,2)	0,127
NW ACP	51,7 (5,69)	48,2 (4,6)	0,174
Opal	51,7 (6,92)	44,0 (5,3)	0,013
WP	50,3 (4,05)	34,8 (3,2)	0,004
DW ACP	53,7 (6,03)	52,6 (5,0)	0,478
WC Ca	52,1 (5,81)	44,8 (4,9)	0,002

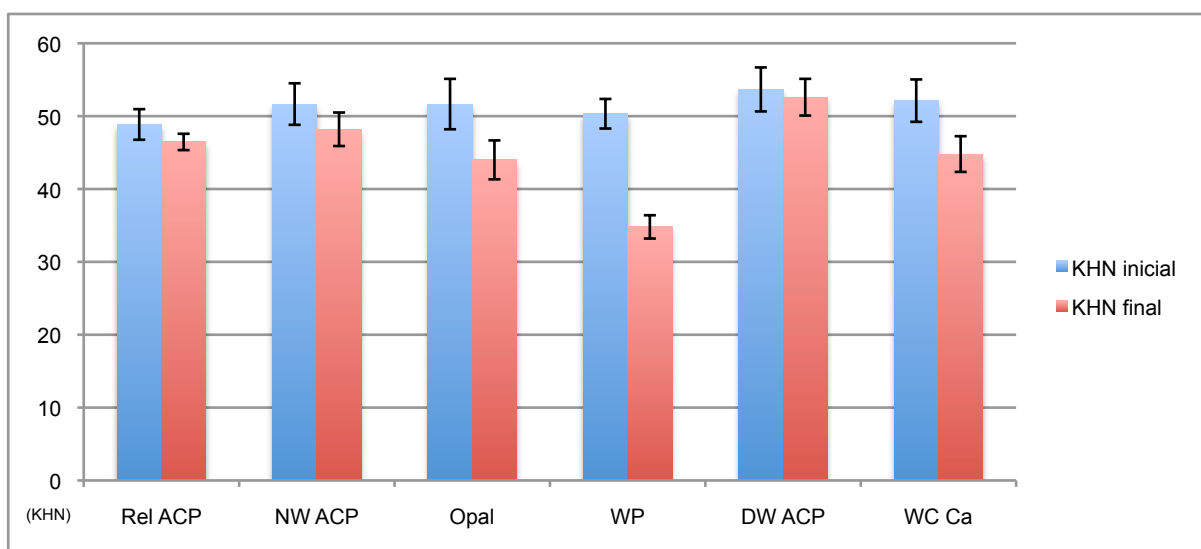


Figura 5.26- Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em dentina, após aplicação dos diferentes géis

## 6 DISCUSSÃO

Os primeiros relatos científicos sobre clareamento dental datam de 1850, mas foi, a partir de 1989, com Haywood e Haymann<sup>(63)</sup> que começaram a surgir vários estudos com objetivo de avaliar a eficácia e os efeitos adversos causados pelos diferentes produtos e técnicas clareadoras.

Inúmeros estudos mostram que os géis clareadores podem causar alterações no conteúdo mineral da estrutura dental<sup>(16, 22, 28-34)</sup>, aumento da porosidade<sup>(14, 15, 19, 30, 33, 35)</sup> e permeabilidade do esmalte<sup>(26)</sup>, diminuição da microdureza do esmalte<sup>(36)</sup> e da dentina<sup>(2, 37)</sup> e sensibilidade dental trans e pós-operatória<sup>(4, 24, 25, 40-43)</sup>.

A partir das alterações relatadas na literatura, a indústria odontológica tem-se preocupado cada vez mais em minimizar ou até mesmo evitar esses problemas. Com isso, surgiram no mercado géis clareadores com substâncias incorporadas às suas formulações, como, por exemplo, flúor, nitrato de potássio, cálcio e fosfato.

Várias pesquisas mostram a influência dos agentes clareadores convencionais (com nitrato de potássio e flúor na composição) sobre estrutura dental. Entretanto pouco se sabe sobre os reais benefícios da adição de cálcio e fosfato ou apenas cálcio a géis clareadores, já que a incorporação dessas substâncias é uma estratégia recente da indústria odontológica.

Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de investigar a influência da adição de cálcio e fosfato a géis clareadores, bem como da adição de apenas cálcio a um gel clareador, na estrutura e microdureza de esmalte e dentina, comparando-os a clareadores que contém apenas flúor e nitrato de potássio na composição. A presente pesquisa também teve o propósito de avaliar o efeito isolado de um produto à base de cálcio e fosfato (genericamente chamado de ACP) sobre o



esmalte e a dentina, uma vez que o “ACP” também é disponibilizado de forma a atuar como material remineralizante.

Pode-se observar na literatura diferentes metodologias para estudar os efeitos dos agentes clareadores na estrutura dental, o que torna difícil a comparação dos estudos entre si. Essa dificuldade de comparação de resultados gera uma grande controvérsia em relação às possíveis alterações que os agentes clareadores podem provocar na estrutura dental. Sem dúvida, a grande quantidade de produtos clareadores com diferentes concentrações de peróxido existentes no mercado, bem como as diversas técnicas clareadoras, com diferentes protocolos de execução, contribuem para isto. Adicionalmente, outro fator que pode contribuir para a divergência de resultados é o emprego de diferentes metodologias utilizadas para obtê-los, como o uso de diferentes substratos (humano ou bovino), o uso de diferentes testes (microdureza Knoop ou Vickers, por exemplo), as diferentes condições de armazenagem (uso de saliva natural ou artificial ou uso de água destilada).

Desta forma, foram tomadas várias medidas para padronizar os espécimes e garantir uma comparação confiável entre eles. Os dentes apresentam variação morfológica entre si, o que pode influenciar na sua análise microestrutural<sup>(140)</sup>. Alguns estudos<sup>(5, 6, 15)</sup> não apresentam preocupação com essa variação morfológica e utilizam espécimes experimentais e controle provenientes de diferentes dentes. Em virtude disso, na presente pesquisa, foram obtidos espécimes experimentais e controle do mesmo dente (Figura 4.1). Todos os espécimes foram seccionados na mesma altura, lixados e polidos simultaneamente, permitindo comparações morfológicas e mecânicas nas diferentes condições experimentais.

Outra dificuldade encontrada para a análise morfológica da estrutura dental é a falta de padrão observada na superfície do esmalte. Autores<sup>(140)</sup> ressaltam a variação dos padrões encontrados no esmalte hígido e afirmam ser necessário estabelecer um critério para que as análises comparativas dos efeitos dos clareadores possam ser bem interpretadas.

Essa falta de padrão observada na superfície do esmalte pode se dar em virtude da presença ou não do esmalte aprismático na superfície dental, o que dificulta a análise e posterior comparação entre os espécimes. O esmalte aprismático está presente em 70% dos dentes permanentes, sendo encontrado em maior quantidade nas regiões cervicais e nas zonas de fissuras e microfissuras e, em menor quantidade, nas superfícies cuspídeas<sup>(75)</sup>. Pensando nessa dificuldade, optou-se, neste estudo, pelo uso do esmalte prismático interno (Figura 4.1), a fim de se padronizar os espécimes e estabelecer parâmetros de comparação.

Inúmeros estudos analisam a estrutura dental clareada por meio de microscopia eletrônica de varredura, porém não existe consenso em relação aos aumentos utilizados para a análise das imagens. Dependendo da magnitude usada para observação das imagens, pode haver interpretações diferentes para uma mesma área. Com o MEV tradicional, os maiores aumentos conseguidos ficam bem aquém dos obtidos através do microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FEG), com isso, o uso desse equipamento permite que uma análise mais minuciosa possa ser realizada e detalhes não observados em menores aumentos possam ser detectados nos maiores.

Se comparada ao esmalte, a dentina é um substrato que apresenta estrutura ainda mais complexa, já que, de acordo com a região observada, há variação na direção, tamanho e quantidade dos túbulos dentinários. Essa variação ocorre, pois a

espessura da dentina peritubular varia de acordo com a localização da dentina e idade do indivíduo. No nível da junção amelo-dentinária, o túbulo pode estar quase totalmente ocupado pela dentina peritubular; no terço médio, a região peritubular apresenta espessura variável, enquanto próximo da polpa essa espessura é mínima ou pode estar ausente (em dentes jovens ou na dentina recém-formada), fazendo com que seu diâmetro aumente consideravelmente<sup>(83)</sup>. A direção dos túbulos também varia, pois seu percurso ao longo da dentina não é retilíneo, devido ao fato de que os odontoblastos, durante a formação da dentina, recuam seguindo um trajeto em “S” alongado. Na dentina coronária, os túbulos são mais retilíneos nas regiões localizadas abaixo dos vértices das cúspides<sup>(82)</sup>.

Além disso, uma vez que o número dos túbulos dentinários varia com cada região da dentina, esse fator também seria considerado como uma variável dentro do estudo. Pensando nisso, foi desenvolvida a metodologia de corte dos espécimes (Figura 4.1), que permitiu com que o número e tamanho dos túbulos fosse bastante similar entre os espécimes retirados de um mesmo dente, bem como entre os espécimes de dentes diferentes.

Nos estudos *in vitro*, é possível isolar algumas variáveis da pesquisa e, assim, conseguir avaliar a influência direta dos produtos sobre a estrutura dental. O uso de produtos, como a saliva artificial, tem várias implicações, destacando-se a grande diversidade de composição encontrada na literatura. Neste estudo, optou-se pela armazenagem dos espécimes em água destilada, já que o objetivo era determinar os efeitos dos diferentes agentes clareadores ou gel remineralizante sobre o esmalte e a dentina *in vitro*, sem a interferência de constituintes presentes na saliva.

Após a análise *in vitro*, seria interessante o desenvolvimento de uma pesquisa *in situ*, em que a composição salivar, o pH do meio, a presença de íons, como flúor, cálcio e fosfato, seriam considerados como variáveis inerentes ao estudo.

Como o pH pode influenciar nos resultados obtidos, foi necessária a análise prévia do pH de todos os produtos que seriam utilizados na presente pesquisa, já que a suposta acidez dos géis clareadores tem sido apontada como um fator contribuinte para a desmineralização e erosão dental<sup>(71, 141, 142)</sup>. Vários estudos mostram que quanto mais ácido é o pH do gel clareador, mais ocorrem modificações na topografia original da estrutura dental<sup>(4, 6, 7, 12, 19, 46, 97)</sup>.

As apatitas dentais resistem de forma diferente às variações de pH na cavidade bucal. Cada uma delas tem sua dissolução ácida iniciada em diferentes pH. Para a hidroxiapatita, o pH crítico é 5,5; para a fluorapatita (mineral presente principalmente na superfície do esmalte, por causa dos desafios bioquímicos), a dissolução inicia-se em pH inferior a 4,5<sup>(44)</sup>; e para a apatita carbonatada (mais encontrada no esmalte recém-erupcionado, no esmalte interno e na dentina), o pH crítico é 6,5<sup>(143)</sup>. Toda vez que o pH crítico for alcançado, ocorrerá saída de íons, como cálcio e fosfato, dos cristais de apatita<sup>(44)</sup>. Isso irá caracterizar um processo chamado de desmineralização dental.

A análise morfológica do esmalte e da dentina foi realizada através de FEG, um instrumento muito versátil e usado para a análise estrutural de materiais sólidos. Apesar da complexidade da preparação das amostras e dos mecanismos para a obtenção da imagem, o resultado é uma imagem de fácil interpretação. Desta forma, a microscopia eletrônica de varredura tornou-se um instrumento imprescindível nas mais diversas áreas, em particular no estudo de novos materiais<sup>(28)</sup>.

É do conhecimento geral que o MEV tradicional pode fornecer imagens com resolução na ordem de micrometros, contudo a resolução óptica deste equipamento é limitada pelo aquecimento do filamento de tungstênio e pela voltagem relativamente alta que é emitida. Já o uso do FEG permite uma alta capacidade de resolução, em escala nanométrica, pois a emissão de elétrons é feita através de um cátodo frio e as lentes objetivas presentes nesse equipamento são de comprimento focal curto. Isso permite que as imagens sejam obtidas com melhor resolução, com menor aceleração de voltagem e, portanto, com maior preservação dos espécimes<sup>(144)</sup>. Desta forma, o FEG permite com que seja feita uma análise ultra-estrutural das amostras, em que pequenos detalhes podem ser detectados.

Por ser o equipamento ideal para analisar alterações nas superfícies de esmalte e dentina a nível nanométrico, foi utilizado um FEG para obtenção das imagens do presente estudo.

Para a realização da análise estatística das imagens, foram selecionados três avaliadores que atribuíram escores para cada imagem, sendo que, para cada grupo, foram utilizadas cinco repetições. Vale ressaltar, que os avaliadores não sabiam quais produtos estavam sendo testados, nem quais eram os espécimes experimentais e os controle. Antes da análise estatística ser realizada, foi feito um teste de concordância entre os avaliadores, em que se observou bom nível de concordância entre os escores atribuídos por eles. Com isso, a tabela do grau das alterações foi validada e a análise estatística pôde ser feita.

Para observar se os produtos utilizados nesta pesquisa poderiam causar alterações na dureza do esmalte e da dentina, optou-se pela realização do teste de microdureza Knoop, um ensaio bastante utilizado e consolidado na literatura. Valores de microdureza antes e depois do tratamento foram obtidos no mesmo

espécime. Esse cuidado deve-se ao fato de que os valores de microdureza podem variar de acordo com a densidade dos túbulos dentinários<sup>(145)</sup> e com o grau de mineralização e orientação dos prismas de esmalte, já que este substrato é anisótropo (as propriedades físicas e mecânicas variam segundo a orientação dos cristais)<sup>(75)</sup>.

Como o esmalte e a dentina são estruturalmente bem diferentes, resolveu-se discutir separadamente a análise ultra-estrutural desses dois substratos.

## **6.1 Análise ultra-estrutural do esmalte**

O esmalte prismático hígido é composto por prismas que, por sua vez, contêm cristais densamente reunidos e organizados em bastonetes<sup>(73, 143)</sup>. No presente estudo, as fotomicrografias revelaram um padrão de esmalte controle liso e uniforme com o aumento de 10.000x (Figura 5.2). Nos maiores aumentos, de 50.000x e 100.000x, foram observados os prismas de esmalte com as regiões prismáticas, interprismáticas e a bainha dos prismas. No maior aumento é possível observar, com nitidez, os cristais que compõem os prismas e pôde-se notar que eles estão bem juntos uns aos outros, em uma estrutura bem compactada, assim como é mostrado na literatura<sup>(143)</sup>.

Uma superfície de esmalte diferente foi observada no grupo tratado com Relief ACP (gel remineralizante), onde se nota uma área uniforme e sem possibilidade de observação dos cristais que formam os prismas (Figura 5.3). Possivelmente, esse padrão observado deva-se à presença de cálcio e fosfato

nesse produto. Os íons devem ter precipitado na forma de ACP e contribuído para a formação de uma camada amorfa acima do esmalte prismático. Contudo a análise estatística das imagens revelou não haver alterações significativas estatisticamente entre o esmalte controle e o tratado com o gel remineralizante Relief ACP.

Já o esmalte tratado com o gel clareador Nite White ACP apresentou uma superfície uniforme, com cristais compactados (Figura 5.4), semelhante ao que se observou no grupo controle (Figura 5.2). É curioso notar que, mesmo com o caráter ácido desse produto (pH em torno de 5,3), não foi observada a desmineralização da superfície. Possivelmente, a precipitação de cálcio e fosfato na forma de ACP fez com que a superfície não sofresse descalcificação ou, se essa desmineralização ocorreu, o cálcio e o fosfato presentes no gel clareador foram suficientes para repor tais perdas.

O esmalte tem sua dissolução ácida iniciada em um pH em torno de 5,5, sendo este o pH crítico para a hidroxiapatita, principal componente mineral da estrutura dental. Segundo a literatura<sup>(44)</sup>, toda vez que o pH crítico for atingido, haverá saída de íons dos cristais de apatita e isso poderá caracterizar o processo de desmineralização dental. Assim a observação de uma superfície de esmalte uniforme, com cristais compactados, deve-se, possivelmente, à presença de fosfato e cálcio na composição deste gel clareador, substâncias que contribuem para a remineralização dental.

Segundo a literatura<sup>(44)</sup>, para que o processo remineralizador seja otimizado, além da presença de flúor no ambiente oral, deve haver também a disponibilidade de cálcio e fosfato. Deste modo, têm-se desenvolvido produtos com a intenção de fornecer cálcio e fosfato para o ambiente oral. Porém existe um fator limitante, que é o tempo decorrido entre o momento em que os íons são aplicados na boca e o

momento da introdução do ácido, quando então serão necessários e em geral já não estão mais disponíveis na cavidade oral<sup>(44)</sup>. Isso não ocorre com o gel clareador que contém fosfato e cálcio na composição, pois ao mesmo tempo em que o dente é exposto ao caráter ácido do produto, estará fornecendo íons fosfato e cálcio para o meio, contribuindo significativamente para o processo de remineralização.

Um estudo realizado com uma fórmula antiga do gel clareador Nite White, sem a presença de cálcio e fosfato, mostrou que esse produto foi capaz de causar alterações na superfície do esmalte dental humano<sup>(46)</sup>. Desta forma, se forem comparados os resultados obtidos por aqueles pesquisadores, com os resultados do presente estudo, pode-se constatar que a adição conjunta de cálcio e fosfato pode evitar o surgimento de alterações estruturais no esmalte de dentes clareados.

Na presente pesquisa, foram estudados outros produtos, como os agentes clareadores convencionais (com nitrato de potássio e flúor). Esses géis já estão há algum tempo no mercado e, com isso, existem vários estudos que mostram a influência deles sobre o esmalte dental.

Segundo trabalhos, *in vitro*<sup>(46, 113)</sup>, o agente clareador Opalescence (peróxido de carbamida a 10% com flúor e nitrato de potássio na composição) é capaz de causar alterações na superfície do esmalte de dentes humanos, sugerindo que esse agente clareador tenha efeito erosivo<sup>(105)</sup>. Os resultados são concordantes aos obtidos no presente estudo, no qual pode ser observado que os espécimes tratados com o gel clareador Opalescence PF apresentaram aumento dos espaços intercrystalinos e observação de fendas entre o esmalte prismático e interprismático, mais precisamente na região da bainha dos prismas (Figura 5.5), caracterizando um processo de desmineralização que deve ter ocorrido em virtude do caráter ácido do produto e da presença de substâncias como o carbopol, um quelante. Segundo a



análise estatística das imagens, o esmalte tratado com esse produto sofreu alterações estatisticamente significativas se comparado ao esmalte controle.

Acredita-se que as alterações observadas em esmalte são causadas por um processo inicial de desmineralização. Alguns estudos mostram que, nas superfícies dentais expostas aos peróxidos, ocorre perda de cálcio<sup>(50, 125)</sup> e fosfato<sup>(146)</sup>. A dissolução inicial do esmalte acontece, principalmente, ao longo das fendas entre o esmalte prismático e o interprismático no tecido. Quando os espaços inter cristalinos da superfície do esmalte são aumentados, ocorre aumento geral da porosidade nessa superfície<sup>(147)</sup>.

A literatura mostra que o uso prolongado de agentes clareadores caseiros (mais de 30 horas) provoca efeitos indesejáveis na superfície do esmalte dental, como alterações não uniformes e áreas de dissolução<sup>(20)</sup>. Autores sugerem que a desmineralização da estrutura dental está relacionada com o baixo pH dos agentes clareadores. Em contrapartida, outros estudos<sup>(8-12, 148)</sup> revelam não haver alterações na estrutura dental clareada com produtos à base de peróxido de carbamida em concentrações em torno de 10%. Contudo os autores não especificam qual o pH dos produtos utilizados e a análise microestrutural foi realizada com o aumento máximo de 5.000 vezes.

Para estudar os fenômenos de desmineralização e remineralização no esmalte e na dentina, autores utilizam imagens de microscopia em grande aumento (entre 80.000x e 150.000x), onde podem ser observados pequenos detalhes<sup>(144, 147)</sup>. Os autores chamam a atenção para o fato de que em menores aumentos o esmalte hígido apresenta-se como uma estrutura lisa e uniforme, contudo, nos maiores aumentos, é possível perceber que essa estrutura aparentemente “lisa” é composta por cristais com forma cilíndrica separados por espaços inter cristalinos distintos<sup>(147)</sup>.

Pesquisadores analisaram, através de FEG, o esmalte e a dentina humana e concluíram que esse equipamento pode gerar imagens de alta resolução, que tem capacidade de revelar estruturas na ordem de nanômetros e mostrar a distribuição dos cristais e das fibras colágenas da estrutura dental <sup>(144)</sup>. As imagens obtidas no presente estudo também foram feitas através de FEG, em aumentos de 10.000x à 100.000x. Com isso, pequenos detalhes que não podem ser observados em imagens de menor magnitude puderam ser detectados e analisados.

Através da análise dessas imagens, pode-se observar que o grupo tratado com Whiteness Perfect (Figura 5.6) apresentou o mesmo padrão descrito para o grupo tratado com Opalescence PF. Isso indica que esse produto também causou desmineralização na estrutura dental. Resultados concordantes foram relatados em uma pesquisa que analisou a morfologia, rugosidade e microdureza de espécimes tratados com um gel clareador à base de peróxido de carbamida a 10% (Whiteness Perfect-FGM), onde se pôde observar alterações morfológicas, diminuição estatisticamente significativa dos valores de microdureza e aumento significativo da rugosidade superficial do esmalte clareado com este produto<sup>(129)</sup>.

Além dos agentes clareadores à base de peróxido de carbamida também foram analisados os efeitos de dois outros clareadores à base de peróxido de hidrogênio, um contendo cálcio e fosfato na composição e outro, apenas cálcio.

A superfície de esmalte tratada com o gel clareador Day White ACP (com cálcio e fosfato) apresentou-se lisa e uniforme, com cristais compactados (Figura 5.7), muito semelhante ao observado no grupo tratado com o gel clareador Nite White ACP. Vale ressaltar que diferentemente dos outros agentes clareadores, esse gel apresenta um pH básico de 8,8, não sendo capaz de causar desmineralização em virtude do seu pH. Contudo o produto apresenta, em sua composição carbopol,

um quelante que, como mostrado na literatura<sup>(2, 133)</sup>, é capaz de causar alterações na estrutura dental, como a diminuição de valores de microdureza em esmalte e dentina. Desta forma, acredita-se que o fosfato e o cálcio presentes na composição desse produto tenham contribuído para a não observação de alterações no esmalte, além, é claro, do pH básico do produto.

Já no grupo tratado com o gel clareador White Class, que contém cálcio na composição, foi observado aumento dos espaços intercristalinos e discretas fendas entre o esmalte prismático e interprismático (Figura 5.8), o que caracteriza desmineralização inicial dessa área. Ao ser comparado o esmalte tratado com os produtos Opalescence PF e Whiteness Perfect com o esmalte tratado com White Class Ca, pode-se observar que as alterações provocadas por este último, foram mais suaves. Isso, possivelmente, deve-se ao tempo de exposição dos espécimes ao gel clareador White Class Ca, que foi 4 vezes menor que o tempo de exposição aos outros dois géis clareadores. De acordo com a análise das imagens, o esmalte tratado com esse gel clareador apresentou alterações estatisticamente significantes se comparado ao esmalte controle. Segundo o fabricante, a adição de cálcio evitaria a desmineralização e a redução da dureza provocada pelo agente clareador, o que contraria os resultados obtidos na presente pesquisa.

Para que ocorra formação de cristais de apatita na superfície do esmalte e da dentina é necessário que haja disponibilidade na cavidade bucal de uma solução hipersaturada não só de íons cálcio, mas também de fosfato. Com isto, ocorrerá precipitação de uma camada de cálcio e fosfato na superfície dental e posterior conversão em fosfato de cálcio amorfo (ACP). Com a aquisição e incorporação de outros íons à camada de ACP, como a hidroxila, o carbonato e o flúor (presentes na cavidade bucal), haverá a cristalização desta camada amorfa e a formação de

cristais de apatita na superfície dental<sup>(116, 143)</sup>, o que contribuirá para a remineralização da estrutura dental.

## 6.2 Análise ultra-estrutural da dentina

Para facilitar a análise das imagens de dentina, optou-se pela divisão desse substrato em duas partes estruturais: dentina tubular e dentina intertubular. Nas imagens da dentina tubular controle (Figura 5.9), observou-se que os túbulos dentinários estão praticamente obliterados, possivelmente por “smear layer”, já que todas as fatias foram lixadas e polidas da mesma maneira. Mesmo com essa obliteração, pode-se notar que existe uma pequena fenda entre a “smear plug” e a parede do túbulo dentinário. Na dentina intertubular, nota-se uma superfície uniforme, sem a observação de fibras colágenas (Figura 5.10). Imagens semelhantes foram observadas em outra pesquisa feita através de microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo, que estudou o esmalte e dentina humana hígida em aumentos que variaram de 10.000 a 150.000x<sup>(144)</sup>.

Além da análise morfológica da dentina hígida, foram observadas superfícies dentinárias tratadas com os mesmos produtos aplicados no esmalte. O primeiro produto utilizado foi o gel remineralizante Relief ACP. A dentina tratada com este gel revelou túbulos dentinários mais obliterados (Figura 5.11) que na dentina controle. Todavia a análise estatística das imagens revelou não haver diferença significativa entre a dentina tubular tratada com esse produto e a dentina tubular controle. Provavelmente, com o uso desse gel remineralizante possa ter ocorrido deposição

mineral nos túbulos, decorrente da precipitação de cálcio e fosfato e posterior conversão para ACP. Na dentina intertubular, foi observada uma área uniforme e mais lisa (Figura 5.12) se comparada à dentina intertubular controle. Contudo a análise das imagens não mostrou diferença estatisticamente significativa entre elas. Resultados semelhantes aos observados na dentina tratada com Relief ACP foram apresentados em um estudo recente<sup>(45)</sup>. Os autores analisaram os efeitos desse mesmo produto sobre a dentina humana e observaram que houve deposição mineral dentro dos túbulos dentinários tratados com esse gel, sendo que a maioria dos túbulos estavam completamente obliterados pelos depósitos. No grupo controle não foram observados depósitos minerais.

Já a análise da dentina tratada com Nite White ACP revelou túbulos dentinários ainda mais obliterados (Figura 5.13) que na dentina controle e na tratada com Relief ACP, porém, na análise estatística, não foram observadas alterações estatisticamente significativas. Como esse gel clareador tem um caráter ácido (pH 4,5), ele pode provocar a saída de íons dos cristais de apatita, gerando a desmineralização parcial desses cristais. A remineralização dental requer a presença de cristais de apatita parcialmente desmineralizados, que podem crescer e voltar a seus tamanhos originais como resultado da exposição às soluções supersaturadas em relação à apatita<sup>(147)</sup>, cuja situação é possivelmente criada quando se fornece íons cálcio e fosfato através do gel clareador Nite White ACP.

A dentina intertubular apresentou-se como uma área completamente lisa e uniforme, sem sinais de descalcificação (Figura 5.14), semelhante ao observado na dentina controle e na tratada com Relief ACP. Possivelmente, a presença de cálcio e fosfato na composição do gel clareador fez com que a superfície não se

apresentasse desmineralizada, pois esses íons seriam suficientes para repor eventuais perdas minerais decorrentes do tratamento clareador.

Essa deposição mineral acima dos túbulos dentinários pode contribuir para a redução da sensibilidade trans e pós-tratamento clareador. Através de uma pesquisa clínica de 180 dias<sup>(53)</sup>, pesquisadores compararam dois agentes clareadores, o Nite White e o Nite White com cálcio e fosfato na composição e observaram redução estatisticamente significativa da sensibilidade trans e pós tratamento clareador com o uso do gel que tem adicionado à sua composição cálcio e fosfato.

Na presente pesquisa, os espécimes tratados com os géis clareadores Opalescence PF (Figuras 5.15 e 5.16) e Whiteness Perfect (Figuras 5.17 e 5.18) apresentaram túbulos dentinários desobstruídos e descalcificação na região da dentina intertubular, caracterizada pela observação de áreas porosas e exposição de algumas fibrilas colágenas. Segundo análise estatística dos escores atribuídos pelos avaliadores, essas alterações foram consideradas estatisticamente significativas em relação à dentina tubular e à dentina intertubular controle. Os géis clareadores atuam nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, devido à alta capacidade de oxidação do peróxido e ao caráter ácido dos produtos<sup>(27)</sup>. A maioria dos agentes clareadores tem pH ácido, o que não é favorável para o esmalte, dentina e cimento. O pH inicial do gel clareador Opalescence PF é de 5,9 e do Whiteness Perfect 6,4. Nos estudos *in vitro*, valores de pH iguais ou mais baixos que 6,4 podem provocar a remoção de minerais da estrutura dental e a saliva artificial pode não ser capaz de garantir a remineralização dessa estrutura<sup>(149)</sup>. Provavelmente, a desmineralização observada nesses grupos deva-se não somente ao caráter ácido desses dois produtos, mas também a presença de algumas substâncias existentes nos agentes clareadores, como o próprio peróxido de

carbamida, o carbopol e a glicerina<sup>(2)</sup>. Os agentes clareadores com carbopol podem causar diminuição nos valores de microdureza da dentina, sugerindo uma contínua desmineralização dessa estrutura mesmo em pH neutro<sup>(2, 133)</sup>.

O peróxido de hidrogênio também é capaz de causar alterações na dentina intertubular e redução significativa dos valores de dureza<sup>(108)</sup>. Essas alterações são resultado do efeito oxidante do peróxido que atua, principalmente, nos componentes orgânico da dentina e do baixo pH do gel. Alguns autores destacam que as maiores alterações são encontradas na dentina intertubular, pois ela apresenta conteúdo orgânico de aproximadamente 20% em peso, em comparação à dentina peritubular, que é hipermineralizada e conseqüentemente, mais resistente ao efeito oxidante do peróxido<sup>(108)</sup>.

O grande problema de utilizar géis clareadores que tenham potencial de causar desmineralização na dentina está no fato de que esses produtos podem entrar em contato com áreas de dentina exposta, como, por exemplo, em regiões de recessão gengival e áreas com lesão não-cariosa<sup>(24, 69, 131)</sup> e, com isso, podem provocar a desobstrução dos túbulos dentinários, causando efeitos indesejáveis como a sensibilidade trans e pós tratamento clareador.

O gel clareador Day White ACP, à base de PH a 7,5%, não causou desmineralização na dentina (Figuras 5.19 e 5.20). Pelo contrário, observou-se na dentina tubular um aspecto semelhante ao encontrado na dentina tratada com Nite White ACP, onde os túbulos estavam mais obliterados que na dentina controle e na tratada com o gel remineralizante Relief ACP. Por sua vez, a dentina intertubular não apresentou nenhuma alteração, assim como observado nos espécimes controle. Bem como para o esmalte, o padrão observado na dentina, possivelmente, deva-se à presença de cálcio e fosfato na composição desse gel clareador, já que este,

mesmo apresentando pH básico, poderia causar discreta desmineralização na dentina por ser oxidante e conter substâncias como o carbopol, um quelante.

A dentina tubular tratada com o gel clareador White Class Ca apresentou túbulos dentinários desobstruídos (Figura 5.21). Segundo análise feita neste estudo, o pH desse gel clareador é de 6,2, ou seja, possui um caráter ácido, tendo potencial de provocar desmineralização na dentina, que, por sua vez, tem pH crítico de 6,5. É interessante ressaltar que a adição de cálcio na composição desse produto não evitou a desobstrução dos túbulos. Muito embora a dentina tubular tenha sido afetada, a dentina intertubular apresentou padrões morfológicos preservados (Figura 5.22), o que é confirmado pela análise estatística das imagens. Certamente isso deve-se ao fato de que este gel clareador ficou em contato com os espécimes por um período diário de 1 hora, totalizando ao final do tratamento, 14 horas de aplicação do gel. Em contrapartida, os géis clareadores à base de peróxido de carbamida (sem cálcio e fosfato) que causaram desmineralização na estrutura dental, permaneceram sobre os espécimes por um total de 56 horas, um tempo de permanência 4 vezes maior, que, notavelmente, causou maiores alterações em esmalte e dentina.

Nesta pesquisa, as fotomicrografias revelaram que os dois agentes clareadores que não contém fosfato e cálcio provocaram desmineralização na estrutura dental, gerando superfícies de esmalte mais porosas e túbulos dentinários abertos em regiões de dentina exposta. Essas áreas afetadas necessitarão de uma maior supervisão pelo dentista e adoção de técnicas que evitem ou minimizem os efeitos indesejáveis, sendo o principal deles a sensibilidade trans e pós tratamento clareador. Já os dois géis clareadores que contém fosfato e cálcio foram capazes de minimizar ou até mesmo evitar o efeito desmineralizante dos clareadores caseiros e



evitar a abertura dos túbulos dentinários expostos, contribuindo para a redução da sensibilidade causada por vários agentes clareadores. Contudo o agente clareador que contém apenas Ca não foi capaz de evitar a abertura dos túbulos dentinários, nem a desmineralização observada no esmalte clareado.

### **6.3 Microdureza do esmalte e da dentina**

Com intuito de complementar a análise ultra-estrutural do esmalte e da dentina, tratados com os seis diferentes géis, também foi analisada a influência desses produtos na microdureza dos dois substratos. Para alguns autores, as alterações na microdureza da estrutura dental são relatadas como perda ou ganho de mineral<sup>(48)</sup>, sendo este ensaio apropriado para determinar pequenas alterações na microdureza superficial de espécimes tratados com géis clareadores<sup>(150)</sup>.

No grupo tratado com Relief ACP (gel remineralizante), não houve diferença estatisticamente significativa dos valores de microdureza antes e depois do tratamento, tanto para esmalte, quanto para dentina. Estes resultados são concordantes com a literatura<sup>(45)</sup> que mostra não haver diferença nos valores de microdureza da dentina tratada com este produto. Um estudo recente, mostra não haver alteração na microdureza do esmalte humano tratado com solução de cálcio e fosfato<sup>(112)</sup>. Porém não existem trabalhos na literatura que mostrem os efeitos do gel remineralizante Relief ACP no esmalte dental.

Para os espécimes tratados com os géis clareadores Nite White ACP e Day White ACP, não houve alteração dos valores de microdureza nem em esmalte, nem

em dentina. Estes resultados são concordantes com as imagens de microscopia obtidas no presente estudo, onde se observa a preservação dos substratos tratados com esses produtos. Não existem estudos sobre a microdureza do esmalte e dentina tratados com esses dois géis clareadores (com cálcio e fosfato na composição), contudo um estudo *in vivo*<sup>(53)</sup> revela que a adição de cálcio e fosfato à composição de um agente clareador é capaz de reduzir a sensibilidade trans e pós tratamento clareador, sugerindo que a adição conjunta dessas substâncias seja benéfica.

Para os espécimes tratados com Opalescence PF e Whiteness Perfect, foi observada uma queda estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) dos valores de microdureza, tanto em esmalte, quanto em dentina. Estes resultados estão de acordo com a literatura, que através de vários estudos, mostra que os agentes clareadores de baixa concentração são capazes de provocar redução na microdureza da estrutura dental<sup>(2, 36, 50, 132)</sup>. Uma outra pesquisa mostrou que o gel clareador Whiteness Perfect (peróxido de carbamida a 10%) causou diminuição estatisticamente significativa na microdureza do esmalte<sup>(129)</sup>. Acredita-se que a redução da microdureza deva-se à ação do peróxido na matriz orgânica do esmalte ou aos agentes ácidos e quelantes presentes nas fórmulas dos géis clareadores<sup>(132)</sup>.

Através de uma pesquisa que avaliou os efeitos do peróxido de carbamida a 10%, do carbopol (quelante) e da glicerina sobre a microdureza do esmalte humano, pôde-se constatar que todas as substâncias estudadas foram capazes de reduzir a microdureza do esmalte e da dentina e o carbopol foi a substância que mais afetou a microdureza desses tecidos<sup>(2)</sup>. O caráter ácido desses dois géis clareadores (Opalescence PF e Whiteness Perfect) também pode ter contribuído para a redução dos valores de microdureza encontrados neste estudo.

Resultados contrários aos obtidos na presente pesquisa foram mostrados em um estudo que não observou alteração nos valores de microdureza de dentes clareados com produtos à base de peróxido de carbamida a 10% sem cálcio e fosfato. Contudo, nesse mesmo estudo, a análise através de microscopia eletrônica de varredura mostrou alterações na topografia superficial do esmalte clareado, sendo essas alterações mais evidentes quanto mais baixo o pH do gel<sup>(12)</sup>. Uma outra pesquisa mostrou não haver diferença estatisticamente significativa na microdureza do esmalte e da dentina tratados com um gel clareador à base peróxido de hidrogênio a 6% (Xtra White). Entretanto os autores atribuem esse resultado ao efeito remineralizante da saliva e/ou da solução fluoretada a que os espécimes foram armazenados<sup>(48)</sup>.

Outro gel clareador utilizado neste estudo foi o White Class Ca, um produto recém-lançado no mercado e que, com isso, não existem pesquisas disponíveis na literatura a seu respeito. Segundo a bula desse produto, a adição de cálcio à formulação tem finalidade de minimizar o processo de desmineralização do esmalte, minimizar a alteração da microdureza dessa superfície e colaborar como dessensibilizante. No entanto os resultados desta pesquisa contrapõem-se aos dados do fabricante, já que foi constatada redução dos valores de microdureza tanto no esmalte, quanto na dentina tratados com esse produto. O ensaio de microdureza confirmou o que foi observado na análise ultra-estrutural dos espécimes tratados com esse gel clareador, onde foram observadas alterações em esmalte e desobstrução dos túbulos dentinários. Desta forma, a adição apenas de cálcio ao gel clareador não é suficiente para evitar a descalcificação do esmalte e da dentina e nem colaborar como dessensibilizante.

As duas metodologias utilizadas nesta pesquisa, análise ultra-estrutural através de FEG e ensaio de microdureza Knoop, mostraram resultados extremamente coerentes entre si. As alterações morfológicas observadas no esmalte e na dentina tratados com géis clareadores (sem cálcio e fosfato ou apenas cálcio) foram capazes de causar mudanças estatisticamente significantes nos valores de microdureza destes dois tecidos. Em contrapartida, o gel remineralizante e os agentes clareadores que contém fosfato e cálcio não causaram alterações morfológicas e nem mecânicas, tanto no esmalte, quanto na dentina. Após estas constatações *in vitro*, seria muito interessante avaliar o comportamento desses produtos *in situ* e *in vivo*.

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e considerando-se as limitações deste estudo, foi possível concluir que:

### 1. Esmalte:

- O gel remineralizante à base de cálcio e fosfato criou uma camada amorfa acima do esmalte prismático. Contudo a análise estatística das imagens revelou não haver alterações significativas estatisticamente entre o esmalte controle e o tratado com o gel remineralizante Relief ACP. Não houve alteração dos valores de microdureza após o uso desse produto;
- Os dois géis clareadores que contém cálcio e fosfato na composição não provocaram desmineralização no esmalte dental e não provocaram alterações nos valores de microdureza desse tecido;
- Os dois géis clareadores sem cálcio e fosfato na composição causaram desmineralização no esmalte e provocaram diminuição dos valores de microdureza;
- O gel clareador que contém apenas cálcio na composição causou desmineralização no esmalte e redução dos valores de microdureza.

### 2. Dentina:

- Nos espécimes tratados com o gel remineralizante foram observados túbulos dentinários mais obstruídos que nos espécimes controle. Todavia a análise estatística das imagens revelou não haver diferença significativa entre

a dentina tubular tratada com esse produto e a dentina tubular controle. Não foram observadas alterações na dentina intertubular. Não houve redução dos valores de microdureza desse tecido;

- Os dois géis clareadores que contém cálcio e fosfato causaram uma maior obliteração dos túbulos dentinários comparado ao grupo controle e ao tratado apenas com o gel remineralizante porém, na análise estatística não foram observadas alterações estatisticamente significativas. Na dentina intertubular não foram observadas alterações. Não houve redução dos valores de microdureza da dentina após o uso desses produtos;

- Os dois géis clareadores sem cálcio e fosfato causaram a desobstrução dos túbulos dentinários e a dentina intertubular apresentou características de desmineralização. Houve redução dos valores de microdureza desse tecido;

- O gel clareador que contém apenas cálcio provocou a desobstrução dos túbulos dentinários, mas não foram observadas alterações na dentina intertubular, o que é confirmado pela análise estatística das imagens. Contudo houve redução dos valores de microdureza da dentina após o uso desse gel.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

1. Giannini M, Cavalli V, Paes Leme AF. Effect of carbamide peroxide-based bleaching agents containing fluoride or calcium on tensile strength of human enamel. *J Applied Oral Science* 2006;11:82-7.
2. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide, carbopol and/or glycerin on enamel and dentin microhardness. *Oper Dent* 2005;30(5):608-16.
3. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. Micromorphology and surface roughness of sound and demineralized enamel and dentin bleached with a 10% carbamide peroxide bleaching agent. *Am J Dent* 2007 Apr;20(2):97-102.
4. Cavalli V, Arrais CAG, Giannini M, Ambrosano GMB. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. *J Oral Rehabil* 2004;31:155-9.
5. Josey AL, Meyers IA, Romaniuk K, Symons AL. The effect of a vital bleaching technique on enamel surface morphology and the bonding of composite resin to enamel. *J Oral Rehabil* 1996 Apr;23(4):244-50.
6. Zalkind M, Arwaz JR, Goldman A, Rotstein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. *Endod Dent Traumatol* 1996 Apr;12(2):82-8.
7. Andrade AP. Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
8. Leonard JR, Eagle JC, Garland GE. Nightguard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. *J Esthet Dent* 2001;13(2):132-9.
9. Worschech CC, Rodrigues JA, Martins LR, Ambrosano GM. In vitro evaluation of human dental enamel surface roughness bleached with 35% carbamide peroxide and submitted to abrasive dentifrice brushing. *Pesq Odontol Bras* 2003 Oct-Dec;17(4):342-8.
10. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of Crest Whitestrips bleaching on surface morphology and fracture susceptibility of teeth in vitro. *J Clin Dent* 2003;14(4):82-7.

---

<sup>1</sup> De acordo com o estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

11. Haywood VB, Leech T, Heymann HO, Crumpler D, Bruggers K. Nightguard vital bleaching: effects on enamel surface texture and diffusion. *Quintessence Int* 1990 Oct;21(10):801-4.
12. Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int* 1993 Jan;24(1):39-44.
13. Attin T. Susceptibility of enamel surfaces to demineralization after application of fluoridated carbamide peroxide gels. *Caries Res* 2003 Mar-Apr;37(2):29-39.
14. Bem-Amar A. Effect of mouthguard bleaching on the enamel surface. *Am J Dent* 1995 Feb;8(1):29-32.
15. Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the longterm effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *Gen Dent* 1998 jan-Feb;46(1):848.
16. Covington JS, Friend GW, Lamoreaux WJ. Carbamide peroxide tooth bleaching: effects on enamel composition and topography. *J Dent Res* 1990; 69:175 (abstr nº 2433).
17. Justino LM, Tames DR, Demarco FF. In situ and in vitro effects of bleaching with carbamide peroxide on human enamel. *Oper Dent* 2004;29(2):219-25.
18. Lee C. Effect of bleaching on microhardness, morphology and color enamel. *Gen Dent* 1995 Mar-Apr;43(2):158-62.
19. McGuckin RS, Babin JF, Meyer BJ. Alterations in human dental enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosthet Dent* 1992 Nov;68(5):754-60.
20. Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the effect of bleaching agents on enamel: a preliminary report. *J Prosthet Dent* 1992 Jun;67(6):852-5.
21. Castello RR, Monnerat AF. Avaliação das alterações estruturais em esmalte submetido ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%. *Rev Bras Odontol* 2004;61(3):160-4.
22. Cimilli H, Pamejer CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *J Amer Dent Assoc* 2001;14(2):63-6.
23. Crim GA. Post-operative bleaching: effect on microleakage. *Am J Dent* 1992;5(2):109-12.
24. Esberard RR, Consolaro A, Esberard RM, Bonetti I, Esberard RR. Efeitos das técnicas e dos agentes clareadores externos na morfologia da junção amelocementária e nos tecidos dentários que a compõe. *Rev Dental Press Estét* 2004 out-dez;1(1):58-72.



25. Oliveira R, Bastin RT, Rodrigues JA, Rodrigues AL, Serra MC. Effect of a carbamide peroxide agent and desensitizing dentifrices on enamel microhardness. *Am J Dent* 2003 Feb;16(1):42-6.
26. Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues AL, Serra MC, Pécora JD, Froner IC. Effect of bleaching agents on enamel permeability. *Am J Dent* 2006;19(5):313-6.
27. Jiang T, Ma X, Wang Y, Zhu Z, Tong H, Hu J. Effects of hydrogen peroxide on human dentin structure. *J Dent Res* 2007 Nov;86(11):1040-5.
28. Andrade AP. Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
29. Goldstein J, Newbury D, Joy D, Lyman C, Echlin P, Lifshin E. Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis. 3<sup>nd</sup> ed. New York: Kluwer Academic; 2003.
30. Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod* 2000 Apr;26(4):203-6.
31. Rotstein L. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin e cementum. *J Endod* 1992 Jun;16(6):290-3.
32. Rotstein L, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalking M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996;22:23-6.
33. Tames D, Grando L, Tames D. Alterações do esmalte dental submetido ao tratamento com peróxido de carbamida 10%. *Rev Assoc Paul Odontol* 1998;2:145-9.
34. Tezel H, Ertas OS, Ozata F, Dalgar H, Korkut ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence Int* 2007 Apr;38(4):339-47.
35. Zalking M. Surface morphology changes in human enamel dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. *Endod Dent Traumatol* 1996;12(2):82-8.
36. Romano JJF, Turssi CP, Rodrigues AL, Serra MC. Concentration-dependent effect of bleaching agents on micro hardness and roughness of enamel and dentin. *Am J Dent* 2007;20(1):31-40.
37. Miranda CB, Pagani C, Benetti AR, Matuda FS. Avaliação da Microdureza do esmalte dental humano submetido ao tratamento clareador. *Rev Ibero-americana Odontol Estet Dentística* 2006;5(18):156-62.

38. Santos MG, Bonifácio CC, Carvalho RCL. Avaliação da resistência de união de resina composta ao esmalte bovino clareado com peróxido de carbamida. *RPG* 2006;13(1):56-62.
39. Stokes NA, Hood JA, Dhariwal D, Patel K. Effect of peroxide bleaches on resin-enamel bonds. *Quintessence Int* 1992;11(23):769-71.
40. Haywood VB. Dentine hypersensitivity: bleaching and restorative considerations for successful management. *Int Dent J* 2002;52:376-84.
41. Nathanson DMD. Vital tooth bleaching: sensitivity and pulpal considerations. *J Am Dent Assoc* 1997 Apr;128:41s-44ss.
42. Spaldin M. Estudo "in vitro" do aspecto morfológico da superfície do esmalte e alteração na permeabilidade dentária após clareação. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.
43. Strassler HE. Carbamide peroxide at home bleaching agents. An update. *NY State J* 1992 Apr;58(4):30-5.
44. Garone W, Silva AV, Garone FP. Erosão. Lesões não cariosas - O novo desafio da odontologia. 1º ed. São Paulo: Santos; 2008. p. 45-78.
45. Li Y, Lu H, Zhang W, Hou J, Devaraj A. Effect of Relief ACP on Dentin Microhardness and Surface Morphology [abstract 1776]. Available from: [http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract\\_93380.htm](http://iadr.confex.com/iadr/2007orleans/techprogram/abstract_93380.htm). [Apr 24 2009].
46. Hegedus C, Bistey T, Flora-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999 Sep;27(7):509-15.
47. Jiang T, Ma X, Wang Y, Tong H, Shen X, Hu Y, et al. Investigation of the effects of 30% hydrogen peroxide on human tooth enamel by Raman scattering and laser-induced fluorescence. *J Biomed Opt* 2008 Jan-Feb;13(1):014019.
48. Joiner A, Thakker G, Cooper Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentin microhardness in vitro. *J Dent* 2004;32:27-34.
49. Mattos AS. Avaliação "in vitro" das alterações química e morfológica da superfície do esmalte utilizando diferentes técnicas de clareamento dental [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.
50. McCracken MS, Haywood VB. Effects of 10% carbamide proxide on the subsurface hardness of enamel. *Quintessence* 1995;26(1):21-4.

51. Maia E, Baratieri LN, Andrada MAC, Monteiro Jr. The influence of two home applied bleaching agents on enamel microhardness: An in situ study. *J Dent* 2008;36:2-7.
52. Giniger M, MacDonald BS, Ziemba S, Felix H. The clinical performance of professionally dispensed bleaching gel with added amorphous calcium phosphate. *J Am Dent Assoc* 2005;133:383-92.
53. Giniger S. Comparative study of original NiteWhite vs new NiteWhite ACP: a 180-day study of tooth color & three sensitivity measures. DataFast™ Research Report 2004:1-3.
54. Haywood VB, Leonard RH, Dickinson GL. Efficacy of six months of nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth. *J Esthet Dent* 1997;9(1):13-9.
55. Jorgensen MG, Carroll WB. Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. *J Am Dent Assoc* 2002 Aug;133:1076-82.
56. Geiger S, Matalon S, Blasbalg J, Tung M, Eichmiller FC. The clinical effect of amorphous calcium phosphate (ACP) on root surface hypersensitivity. *Oper Dent* 2003 Sep-Oct;28(5):496-500.
57. Dwinelle. American Society of Dental Surgeons. *Am J Dent Sci* 1850;1:57-61.
58. Woodnutt C. Discoloration of Dentine. *Dent Cosmos* 1860;2:662.
59. Atkinson H. Decoloration of Dentine. *Dent Cosmos* 1860;2:662.
60. M'Quillen. Review of Dental Literature and Art - Bleaching. *Dent Cosmos* 1861;3:204-7.
61. Fisher. The bleaching of discolored teeth with hidrogen peroxide. *Dent Cosmos* 1910 Apr;53:246-7.
62. Ames JW. Removing stains from mottled enamel. *J Am Dent Assoc* 1937 Oct;24:1674-7.
63. Haywood VB, Haymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessece Int* 1989;20(3):173-6.
64. Mandarino F. Clareamento Dental. São Paulo2003 [cited 2007 set]; Available from: [www.forp.usp.br](http://www.forp.usp.br).
65. Joiner A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-9.
66. Ribeiro M, Bastos FA, Pereira GDS. Manual clínico e teórico de clareamento dental. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

67. Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentin properties. *J Dent* 2007;35:889-96.
68. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: Biologic adverse effects - A review. *Quintessence Int* 2008;39(8):645-9.
69. Pereira JC, Segala AD. Hipersensibilidade pós-tratamento restaurador. In: Cardoso RJA, Golçalves EAN. *Dentística laser*. São Paulo: Artes Médicas; 2002. v. 1, p. 337-94.
70. Nathanson D. Vital tooth bleaching: sensitivity and pulpal considerations. *J Am Dent Assoc* 1997 Apr;128 Suppl:41S-4S.
71. Price RBT, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc Endod* 2000;66(8):421-6.
72. Tam L. Vital tooth bleaching: review and current status. *J Can Dent Assoc* 1992 Aug;58(8):654-5, 9-60, 63.
73. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. *Histology: a text and atlas*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
74. Katchburian E, Arana V. Esmalte. *Histologia e Embriologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 233-74.
75. Ferraris MEG, Muñoz AC. Esmalte. *Histologia e Ebrriologia bucodental*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 245-86.
76. Provenza DV. *Fundamentals of oral histology and embryology*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1988.
77. Ten Cate AR. *Histologia bucal. Desenvolvimento, estrutura e função*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
78. Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of Clinical Cariology*. Copenhagen: Munksgaard; 1995.
79. Lullmann-Rauch R. Cavidade oral. In: Koogan G, editor. *Histologia: entenda, aprenda, consulte*. Rio de Janeiro; 2006. p. 187-97.
80. Mjor IA, Fejerskov O. Esmalte dentário. *Embriologia e histologia oral humana*. São Paulo: Panamericana; 1990. p. 50-88.
81. Baratieri LN. Uso do Flúor. *Dentística: procedimentos preventivos e restauradores*. Rio de Janeiro: Quintessence; 1989. p. 43-67.
82. Katchburian E, Arana V. Complexo dentina-polpa. *Histologia e embriologia oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 177-231.

83. Ferraris MEG, Muñoz AC. Complexo dentino-pulpar. *Histologia e embriologia bucodental*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 213-44.
84. De Munck J, Van Merbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vagas M, Suzuki K. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82(2):136-40.
85. Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent Res* 1997;25(6):441-58.
86. Pashley DH. Dynamics of the pulp-dentin complex *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7(2):104-33.
87. Butler WT. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *Int J Dev Biol* 1995;39:169-72.
88. Brannstrom M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries, and the dentinal crack syndrome. *J Endod* 1986 Oct;12(10):453-7.
89. Haywood VB, Houck VM, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: effects of various solutions on enamel surface texture and color. *Quintessence Int* 1991 Oct;22(10):775-82.
90. McEvoy S. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth - Current techniques and their clinical application. *Quintessence Int* 1989 Jun;20(6):379-84.
91. Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int* 1992;23(7):471-88.
92. Oliveira M, Pacheco J, Oliveira A, Oshima H. Influência do peróxido de carbamida a 10% sobre a estrutura do esmalte. *Rev Odontol Ciênc* 2002 out-dez;17(38):415-9.
93. Ben-Amar A, Liberman R, Gorfil C, Bernstein Y. Effect of mouthguard bleaching on the enamel surface. *Am J Dent* 1995 Fev;8(1):29-32.
94. Andrade AP. Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.
95. Matos JAMG. Mudanças de cores e indicadores. *Química Nova* 1999 nov;10:6-10.
96. Fasanaro TS. Bleaching teeth: history, chemicals, and methods used for common tooth discolorations. *J Esthet Dent* 1992;4(3):71-8.

97. Flaitz CM, Hicks MJ. Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: an SEM and polarized light microscopic in vitro study. *J Dent Child* 1996;63(4):249-56.
98. Pécora JD, Sousa Neto MD, Silva RG, Saquy PC, Vansan LP, Cruz Filho AM, et al. *Guia de Clareamento Dental*. São Paulo: Santos; 1996.
99. Baratieri LN. *Caderno de dentística*. São Paulo: Santos; 2004.
100. Nathoo SA. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. *J Am Dent Assoc* 1997;128(Spec Suppl):6s-10s.
101. Kirk EC. The chemical bleaching of teeth. *Dent Cosmos* 1889;31:273-5.
102. Bowles WH, Ugwuneri Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. *J Endod* 1987 Aug;13(8):375-7.
103. Chen JH, Xu JW, Shing CX. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical J *Prosthet Dent* 1993 Jan;69(1):46-8.
104. Lynch E, al. e. Molecular mechanisms of the bleaching actions associated with commercially-available whitening oral health care products. *J Ir Dent Assoc* 1995;41(4):94-102.
105. Baratieri LN, Maia E, Caldeira de Andrada MA, Araújo E. *Caderno de dentística - clareamento dental*. 1º ed. São Paulo: Santos; 2005.
106. Solomons TWG. Álcoois a partir de compostos carbonílicos. Oxidação-redução e compostos organometálicos. *Química Orgânica*. 6º ed. Rio de Janeiro: LTC; 1996. p. 483-6.
107. Mielczarek A, Klukowska M, Ganowicz M, Kwiatkowska A, Kwasny M. The effect of strip, tray and office peroxide bleaching systems on enamel surfaces in vitro. *Dent Mater* 2008;24:1495-500.
108. Chng HK, Ramli H, Yap AUP, Lim CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. *J Dent* 2005;33:363-9.
109. Parsons S. *Advanced oxidation processes for water and wastewater treatment*. 1ºed. London: IWA; 2004.
110. Pasquini EEG. Clareamento em dentes vitais X Estruturas vitais. 2005 [cited 2005 10 nov ]; Available from: <[www.odontologia.com.br/artigos](http://www.odontologia.com.br/artigos)>
111. Cardoso RJA, Golçalves EAN. *Odontologia estética*. 1º ed. São Paulo: Artes Médicas; 2002.

112. Jiang T, Ma X, Wang Z, Tong H, Hu J, Wang Y. Beneficial effects of hydroxyapatite on enamel subjected to 30% hydrogen peroxide. *J Dent* 2008 Nov;36(11):907-14.
113. Tames D, Grando LJ, Tames DR. Alterações do esmalte dental submetido ao tratamento com peróxido de carbamida 10%. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1998 mar/abr;52(2):145-9.
114. Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc* 2003. p. 221-6.
115. Pereira JC, Segala AS. In vitro effect of KO x based desensitizing agents on hydraulic conductance of human dentin, submitted to different surface treatments. *J Dent Res*1999;78:252.
116. Tirapelli C. Avaliação da eficácia de um biomaterial e conhecidos agentes dessensibilizantes no tratamento da hipersensibilidade dentinária – estudo in vitro e in vivo. Ribeirão Preto: Faculdade de odontologia de Ribeirão Preto; 2007.
117. Addy M, Urquhart E. Dentine hypersensitivity: its prevalence, aetiology and clinical management. *Dent Update* 1992 Dec;19(10):407-8, 10-2.
118. Schumacher GE, Antonucci JM, O'Donnell NR, Skrtic D. The use of amorphous calcium phosphate composites as bioactive basing materials. *J Am Dent Assoc* 2007;138(11):1476-84.
119. Yates R, Owens J, Jackson R, Newcombe R, Addy M. A splitmouth placebo-controlled study to determine the effect of amorphous calcium phosphate in the treatment of dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol* 1998;25(8):687-92.
120. Eanes ED. Amorphous calcium phosphate: thermodynamic and kinetic considerations. *Calcium Phosphates in Biological and Industrial Systems*. Boston: Academic Publishers; 1997.
121. Tung MS, Bowen HJ, Derkson GD, Pashlet DH. Effects of calcium phosphate solutions on dentin permeability. *J Endod* 1993;19(8):383-7.
122. Tung MS, Eichmiller FC. Amorphous calcium phosphates for tooth mineralization. *Compend Contin Educ Dent* 2004 Sep;25(9 Suppl 1):9-13.
123. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998;18(1):8-16.
124. Reynolds EC, Cain CJ, Weber FL, Black CL, Riley PF, Johson IH. Anticariogenicity of amorphous calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995(74):1272-9.

125. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996 Jan;22(1):23-5.
126. Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ, Dashper SG, Eakins D, Reynolds EC. Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass-ionomer cement. *J Dent Res* 2003 Nov;82(11):914-8.
127. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2001 Dec;80(12):2066-70.
128. Hunsaker KJ, Christense GJ, Christensen RP. Tooth bleaching chemicals - Influence on teeth and restorations. *J Dent Res* 1990;69:303.
129. Pinto CF, Oliveira R, Cvalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res* 2004 Oct-Dec;18(4):306-11.
130. Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputadorised tomography evaluation of carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent* 2005 Aug;33(7):561-7.
131. Esberard R, Esberard RR, Esberard RM, Consolaro A, Pameijer CH. Effect of bleaching on the cemento-enamel junction. *Am J Dent* 2007 Aug;20(4):245-9.
132. Pinheiro Jr EC. Ação dos géis clareadores que contêm peróxido de carbamida sobre a microdureza do esmalte humano. Ribeirão Preto: FORP-USP; 1996.
133. Soldani P. Alterações na microdureza do esmalte dental humano tratado in vitro e in situ com diferentes sistemas clareadores e espessantes. Guarulhos: Universidade de Guarulhos; 2006.
134. Crews KM, Duncan D, Lentz D, Gordy FM, Tolbert B. Effect of bleaching agents on chemical composition of enamel. *Miss Dent Assoc J* 1997 Spring;53(1):20-1.
135. Oliveira MT PJ, Oliveira ACC, Oshima HMS. Influência do peróxido de carbamida a 10% sobre a estrutura do esmalte. *Rev Odontol Ciênc* 2002 out-dez;17(38):415-9.
136. Leonard RH, Jr., Haywood VB, Phillips C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. *Quintessence Int* 1997 Aug;28(8):527-34.
137. Welch FH, Eick JD. A method to reduce or prevent postoperative sensitivity with posterior composite resin restorations. *Quintessence Int* 1986;17(10):667-6.



138. Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. *J Endod* 1992;18:315-7.
139. Ferreira M. Preparo de amostras para a realização do teste de microdureza. Florianópolis: UFSC; 2004.
140. Spaldin M, Taveira LAA, Assis GF. Scanning Electron Microscopy Study of Dental Enamel Surface Exposed to 35% Hydrogen Peroxide: Alone, With Saliva, and With 10% Carbamide Peroxide. *J Esthet Restorative Dent* 2003;15(3):154-64.
141. Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. Relative susceptibility of deciduous and permanent dental hard tissues to erosion by a low pH fruit drink in vitro. *J Dent* 2000 May;28(4):265-70.
142. Hughes JA, West NX, Parker DM, van den Braak MH, Addy M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. *J Dent* 2000 Feb;28(2):147-52.
143. Fejerskov O, Edwina K. Interações químicas entre o dente e os fluidos orais. Cárie dentária: A doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Santos; 2005. p. 49-69.
144. Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. *J Biomed Mater Res* 1999 Sep 5;46(3):315-23.
145. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol* 1985 Oct;1(5):176-9.
146. Santini A, Pulham CR, Rajab A, Ibbetson R. The effect of a 10% carbamide peroxide bleaching agent on the phosphate concentration of tooth enamel assessed by Raman spectroscopy. *Dent Traumatol* 2008 Apr;24(2):220-3.
147. Fejerskov O, Kidd E. Características Clínicas e Histológicas da Cárie Dentária. Cárie dentária: A doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Santos; 2005. p. 71-84.
148. Worschech CC, Rodrigues JA, Martins LR, Ambrosano GM. Brushing effect of abrasive dentifrices during at-home bleaching with 10% carbamide peroxide on enamel surface roughness. *J Contemp Dent Pract* 2006 Feb 15;7(1):25-34.
149. Lopes GC, Bonissoni L, Baratieri LN, Vieira LC, Monteiro S, Jr. Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *J Esthet Restorative Dent* 2002;14(1):24-30.
150. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil* 1997 Apr;24(4):282-6.

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



Universidade de São Paulo  
Faculdade de Odontologia  
Comitê de Ética em Pesquisa

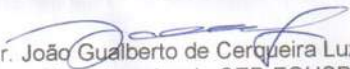
2ª. via

**PARECER DE APROVAÇÃO**  
FR - 184925  
Protocolo 77/2008

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa "**Análise estrutural e química de dentes submetidos ao clareamento caseiro com diferentes géis de peróxido de carbamida**", de responsabilidade da Pesquisadora Helena Burlamaqui Pinheiro, sob orientação do(a) Prof(a). Doutor(a). Paulo Eduardo Capel Cardoso, APROVADO em 12 de maio de 2008.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 03 de setembro de 2008.

  
Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz  
Coordenador do CEP-FOUSP

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)