

LETÍCIA CHUN PEI PAN

**AVALIAÇÃO *IN SITU* DA MICRODUREZA DO ESMALTE DENTAL
HUMANO SUBMETIDO AO CLAREAMENTO COM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO**

São Paulo
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Letícia Chun Pei Pan

**Avaliação *in situ* da microdureza do esmalte dental humano
submetido ao clareamento com diferentes concentrações de
peróxido de hidrogênio**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Moreira de Freitas.

São Paulo
2009

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Pan, Letícia Chun Pei
Avaliação *in situ* da microdureza do esmalte dental humano submetido ao clareamento com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio / Letícia Chun Pei Pan; orientador Patrícia Moreira de Freitas. -- São Paulo, 2009.

104p. : fig.; 30 cm.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Dentística) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Clareamento de dente – Microdureza do esmalte dental – Avaliação 2. Peróxido de hidrogênio – Tratamento clareador 3. Dentística

CDD 617.675

BLACK D36

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Pan LCP. Avaliação *in situ* da microdureza do esmalte dental humano submetido ao clareamento com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo, ___/___/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: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha família, meu eterno porto seguro; dedico este trabalho.

Ao meu papai, um grande estudioso, batalhador da vida e amante dos desafios. Sempre me incentivou em cada fase da minha vida pessoal e profissional, para que eu pudesse atingir meus objetivos, e, sempre me estimulou a superar meus próprios limites.

À minha mamãe, um exemplo de amor e dedicação aos filhos, sempre presente nas horas mais difíceis, nunca mediu esforços em ajudar em cada momento da minha vida, compreendendo minhas escolhas, vibrando com as minhas conquistas e abençoando todos os meus dias, com muito carinho e dedicação.

Ao meu irmão Peter Pan, meu grande e melhor amigo, amigo de todos os momentos, para todas as confidências, angústias e alegrias. Um amigo de verdade que sempre acreditou e confiou na minha capacidade e espero que nosso espírito de família e união esteja sempre presente.

Meu eterno e sincero muito obrigada.

Cruz

Agradeço a você, meu parceiro e companheiro de todos os momentos, que vivenciou ativamente esta fase tão importante da minha vida, sempre presente apoiando-me e fortalecendo-me para que eu pudesse superar as dificuldades enfrentadas a cada dia, fazendo-me acreditar que eu conseguiria chegar aonde cheguei. Saiba que este momento, certamente também é mérito seu.

Agradeço eternamente sua dedicação.

À Profa. Dra. Patrícia Moreira de Freitas

Pela sua orientação neste trabalho, pela amizade que sempre demonstrou durante este período, pelas palavras sinceras nos momentos de dificuldade, e, sobretudo pelo apoio para que fosse possível o término deste trabalho.

Meu sincero obrigada.

AGRADECIMENTOS

A **Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pela concessão do Auxílio à Pesquisa processo n.07/54666-9, que permitiu a aquisição de materiais necessários para o desenvolvimento deste trabalho.

A **Universidade de São Paulo**, representada pela Magnífica Reitora, Profa. Dra. Suely Vilela.

A **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, representado pelo Diretor Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo.

Ao **IPEN** – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, pela contribuição durante o experimento *in situ*.

Ao **Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias**, Coordenador Geral da Pós Graduação da FOU SP.

A **Profa. Dra. Miriam Lacalle Turbino**, Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Dentística da FOU SP.

Ao **Laboratório de Engenharia Mecânica da PUC-PR**, por ter permitido a utilização dos seus equipamentos, em especial o microdurômetro, o que viabilizou a execução deste experimento *in situ*.

A **APMG – Academia Policial Militar do Guatupê**, representado naquele momento pelo Cel QOPM Joacyr José da Silva, de onde foram selecionados os cadetes voluntários para participação do experimento. Sem os quais, este experimento não seria viável.

A **Profa. Dra. Márcia Martins Marques**, a quem devo o meu ingresso na pós-graduação na USP, um sonho de longa data, e certamente sem você nada disso seria viável.

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, pela orientação temporária no início do curso de Pós Graduação e com quem tive a oportunidade de conviver, momentos breves, no entanto importantes e inesquecíveis na minha vida.

Aos **Professores do Departamento da Dentística**, pelos ensinamentos adquiridos durante o período da minha formação, e que muito contribuíram para o meu crescimento profissional e, sobretudo, pessoal.

Ao **Professor Dr. José Mondelli**, meu grande mestre e norteador dos meus objetivos, um eterno incentivador, a quem devo não somente a conclusão deste meu doutorado, como em grande parte da minha vida profissional e acadêmica.

Ao **Professor Dr. Celso Yamashita**, um grande amigo, companheiro de trabalho, com quem tenho a honra de compartilhar momentos acadêmicos ímpares.

A **Professora Dilcele Dziedzic**, uma amiga verdadeira que a vida acadêmica me presenteou.

Aos **Professores Fernando Osternack e Ubiracy Gaião**, amigos verdadeiros, parceiros de docência, companheiros de disciplina, que a Universidade Positivo nos uniu e que espero conviver por muitos anos.

Ao **Dr. Fabiano Mello**, um grande colega sem o qual este doutorado não teria sequer iniciado.

A **Profa. Maria da Graça Kfoury Lopes**, coordenadora do curso de Odontologia da Universidade Positivo, com quem tive o imenso prazer de um dia ter sido sua aluna, e que hoje, confia em mim, a missão de fazer parte integrante dos docentes de tão respeitada Universidade, sem o seu apoio e incentivo, este sonho jamais se realizaria.

A **Profa. Dra. Neide Kuromoto**, professora do Departamento de Física da UFPR, por ter sempre me recebido de braços abertos, pelas inúmeras contribuições

em trabalhos paralelos, mas que muito influenciaram positivamente na minha formação durante a Pós-Graduação. Principalmente por ter permitido a utilização do seu laboratório de pesquisa em Curitiba.

A minha segunda família, **a família miliciana**, aos diversos comandantes e diretores que viabilizaram e autorizaram a realização deste doutorado. Coronel Luis Carlos, Coronel Moro, Coronel Roberto, Coronel Joacyr, Coronel Ozires, Coronel Roberson, Coronel Mariot, dentre outros inúmeros oficiais que me apoiaram nesta importante etapa da minha vida acadêmica.

Aos meus **Amigos da pós-graduação, Camillinha Bengston, Gisela Castanho, Fernando Hanashiro, Leiloca Soares**, pela amizade, companheirismo e pelos bons momentos compartilhados.

A amiga especial, **Yuri Arakaki**, uma “irmãzona” que a USP me presenteou, como eu já dizia: “Só o fato de ter adquirido uma amiga como você, já fez valer a pena a minha vinda para a USP”. É isso mesmo Yu, sem a sua amizade, seu companheirismo, suas palavras sinceras e suas caronas, este doutorado jamais se concluiria. Espero ser merecedora da sua amizade para sempre, e quem sabe um dia poder retribuir tudo o que fez por mim.

Aos queridos colegas de Pós-graduação, **Airton, Amandinha, Bruna, Carol, Cidão, Dai, Déa, Denis, Debby Brown, Freddy, Ju Goldman, Lu Espejo, Lúcia, Marinão, Robles, Sérgio, Simone, Taciana, Taís e Washington**.

Aos funcionários do Departamento de Dentística **Ana, Soninha, Aldo, Arnaldo e Leandro** pelo apoio constante, pelo carinho diário e pelo convívio maravilhoso durante toda a Pós-Graduação.

A **Nair e David**, pelos inúmeros cafés das manhãs, pelo carinho na convivência, pelas palavras amigas e por toda a força para que eu conseguisse atingir meus objetivos.

A **Kátia, Alessandra e Nair**, da Secretaria da Pós-Graduação, pela paciência e ajuda em todas as dificuldades enfrentadas durante este período.

A **Lili**, funcionária do LELO, por toda a ajuda prestada, e por ser sempre muito prestativa durante todo o período da Pós-Graduação.

A “**Tiquinho**”, minha super secretária e auxiliar **Adeline**, meu braço direito, sem a qual não teria sido possível administrar todo este período conturbado da Pós-Graduação.

Ao **Jeison**, amigo e praticamente um membro da família, sempre presente e disposto a ajudar no que fosse necessário.

Ao **1° Ten Neto** pela disposição na estatística do estudo, sem o qual não conseguiria finalizá-lo.

Ao **Cabo Xavier e 1° Sargento Amarildo** pelo apoio na parte gráfica do meu trabalho.

Aos **Cadetes Policiais Militares e Bombeiros Militares** que, espontaneamente contribuíram com o experimento, mostrando organização e disciplina durante todo o estudo. São eles: **Cadetes PM Bárbara, Lopes, Kelly, Tonolli, Hoflinger e Marquetti; Cadetes BM Luisiana, Nunes, João Paulo, Weber, Heloísa, Keyla, Tamires, Verbiski, Willian, Freire, Conte, Rodrigues, Maikon e Dieferson**. Em especial a Cadete PM Bárbara, pelo agendamento das escalas dos atendimentos, durante todos os momentos do estudo.

Ao meu irmão **Fernando Pan** que, apesar de distante geograficamente, sempre me incentivou neste meu desafio.

A minha irmã **Tereza Pan**, pela sinceridade, pelo amor, carinho e, sobretudo confiança que sempre dedicou a mim.

A minha avó **Nai nai**, que gentilmente me acolheu em seu lar, durante toda a minha estadia em São Paulo, pelo seu carinho, amor e cuidado que sempre dedicou a mim.

A todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a conclusão deste caminho e me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho....

... e a **Deus** que me acompanha. Sem Ele, nada é possível.

Pan LCP. Avaliação *in situ* da microdureza do esmalte dental humano submetido ao clareamento com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

Diversos estudos têm se preocupado com os efeitos dos agentes clareadores de uso em consultório no esmalte dental. Este estudo *in situ* teve como objetivo avaliar a microdureza do esmalte dental humano submetido ao clareamento com diferentes concentrações (25% e 35%) de peróxido de hidrogênio, antes e durante o tratamento clareador. Oitenta fragmentos de terceiros molares humanos inclusos foram utilizados. Previamente ao tratamento clareador, os fragmentos de esmalte foram polidos e submetidos ao teste de microdureza Knoop (KHN) para determinação da microdureza inicial (t_0 – *baseline*). Em seguida, os fragmentos foram aleatoriamente divididos em dois grupos de tratamento: clareamento com Peróxido de Hidrogênio (PH) a 25% e clareamento com PH a 35%. Imediatamente após o tratamento clareador *in vitro*, os valores de microdureza Knoop foram novamente mensurados (t_1). Quatro fragmentos de esmalte foram cimentados em cada um dos vinte voluntários selecionados. Cada um dos fragmentos foi avaliado em diferentes tempos (t_2, t_3, t_4, t_5) ($n=10$), correspondentes aos períodos de 48 h e 7 dias após a primeira sessão de clareamento, e imediatamente e 7 dias após a segunda sessão de clareamento, respectivamente. As médias dos valores de microdureza obtidas em cada tempo de avaliação foram submetidas à Análise Variância e Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os fragmentos de esmalte submetidos ao tratamento com PH a 25% apresentaram valores de microdurezas inferiores ao inicial (*baseline*) e nos tempos t_2 ($p = 0,02798$) e t_4 ($p = 0,01824$), ambos comparados

ao tempo t_1 . No grupo submetido ao tratamento com PH a 35% houve redução dos valores de microdureza imediatamente após a primeira sessão de clareamento (t_1), valores estes que não diferiram estatisticamente nos outros tempos avaliados no estudo. Conclui-se que o clareamento à base de peróxido de hidrogênio (25% e 35%) reduz a microdureza do esmalte dental *in situ*, não recuperada após uma semana de finalização do tratamento.

Palavras-chave: Clareamento dental, Microdureza Knoop, Esmalte, Peróxido de hidrogênio, *in situ*

Pan LCP. Evaluation of human enamel microhardness following *in situ* bleaching with different concentrations of hydrogen peroxide [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

Many studies are concerned with the adverse effects of in-office bleaching systems on human enamel. The purpose of this *in situ* study was to evaluate the microhardness of human enamel before, during and after in-office bleaching with different concentrations of hydrogen peroxide (25% and 35%). Eighty enamel slabs from extracted human third molars were used. Before bleaching, the slabs were polished and the initial Knoop microhardness was measured (t_0 - *baseline*). The slabs were then randomly divided into two treatment groups, bleaching with 25% hydrogen peroxide and with 35% hydrogen peroxide. Immediately after the *in vitro* bleaching treatment the Knoop microhardness was measured again (t_1). Four slabs were cemented onto teeth of twenty selected volunteers. The Knoop microhardness was measured in different time periods: (t_2 , t_3 , t_4 and t_5) (n=10); corresponding respectively to: 48 hours, 7 days after the first *in vitro* bleaching treatment, immediately after the second bleaching treatment and 7 days after that. The mean hardness values in each measured time period were analyzed statistically using ANOVA and Tukey's test ($p \leq 0.05$). The microhardness values of the enamel slabs treated with 25% hydrogen peroxide were lower than *baseline*; also in the periods t_2 ($p = 0,02798$) and t_4 ($p = 0,01824$), compared to t_1 . In the group treated with 35% hydrogen peroxide it was observed a reduction on microhardness immediately after the first bleaching (t_1), with differences not statistically significant from the other time

periods measured in this study. It was concluded that bleaching with hydrogen peroxide (25% and 35%) reduces the enamel microhardness *in situ*, which was not recuperated one week after completion of the treatment.

Key-words: Dental bleaching, Knoop microhardness, enamel, hydrogen peroxide, *in situ*.

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 ESMALTE	18
2.2 CLAREAMENTO DENTAL	24
2.2.1 Histórico	24
2.2.2 Agentes clareadores - Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	28
2.2.3 Mecanismo de ação química dos agentes clareadores	30
2.2.4 Técnicas de clareamento em dentes vitalizados	31
2.2.5 Efeitos dos agentes clareadores no esmalte - Microdureza	32
3 PROPOSIÇÃO	49
4 MATERIAIS E MÉTODOS	50
5 RESULTADOS	65
6 DISCUSSÃO	69
7 CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS	84
ANEXOS	94
APÊNDICES	98

1 INTRODUÇÃO

A estética vem ganhando destaque cada vez maior na Odontologia, reflexo de uma exigência crescente dos pacientes que buscam uma melhor aparência, assumindo a dentição um aspecto de maior relevância (SANTOS; SIQUEIRA; DI GIROLAMO NETO, 1996; SAQUY, 1992). Atualmente, a cor dos dentes, associada à harmonia estética do sorriso, é um dos fatores para integração do indivíduo no meio em que vive (CARVALHO, 2000).

Diferentes sistemas de clareamento dental foram introduzidos desde 1989, variando a concentração do agente clareador e forma de apresentação dos produtos. O mecanismo de ação dos agentes clareadores na remoção de pigmentos está ligado à decomposição de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), agente ativo do gel. A degradação do peróxido de hidrogênio leva à formação de radicais livres que, em contato com o dente, difundem-se pelo esmalte e dentina, oxidando moléculas orgânicas complexas responsáveis pelo escurecimento do dente, resultando no clareamento (CLINICAL RESEARCH ASSOCIATES, 2003; GOLDSTEIN; GARBER, 1995; TJAN; DUNN, 1988).

Devido ao íntimo contato do agente clareador com os tecidos dentais por um determinado período de tempo e às características inerentes aos componentes do produto, alterações da micromorfologia e na microdureza superficial do esmalte podem ser esperadas (OLIVEIRA et al., 2005; PINTO et al., 2004; RODRIGUES, 2003; RODRIGUES et al., 2005).

Alterações no conteúdo mineral podem interferir na microdureza superficial do esmalte (BUCHALLA; ATTIN, 2007) e da dentina (BUCHALLA; ATTIN, 2007; RODRIGUES, 2003), apesar da presença de saliva, de fluoretos e outras

substâncias remineralizantes serem capazes de manter o equilíbrio entre os processos de desmineralização e remineralização desses substratos (LEONARD, 1998; PEREZ; PORTELA; BARCELEIRO, 2006).

Poucos são os estudos *in situ* que reportam os efeitos de diferentes agentes clareadores na alteração do conteúdo mineral do esmalte (BASTING; RODRIGUES; SERRA, 2003; FARAONI-ROMANO; TURSSI; SERRA, 2009; MAIA et al., 2008). Desta forma, o objetivo do presente estudo é analisar alterações da superfície do esmalte durante o tratamento clareador com diferentes agentes a base de peróxido de hidrogênio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESMALTE

O esmalte é o tecido humano mais mineralizado, consistindo principalmente em 96% em volume de material inorgânico e apenas uma pequena quantidade de substância orgânica e água (4%) também em volume (SHARAWY; YAEGER, 1989).

O conteúdo inorgânico mais abundante do esmalte é o fosfato de cálcio e a apatita que se apresenta nas formas de hidroxiapatita, fluoroapatita e carbonatoapatita (GWINNETT, 1992), também encontrada no osso, cartilagem calcificada, dentina e cimento.

Em relação aos outros tecidos mineralizados, difere quanto à sua origem, estrutura e grau de mineralização (GWINNETT, 1992). Em condições fisiológicas, o esmalte recobre a parte do dente que está exposta ao ambiente bucal, variando em espessura, de acordo com a região da coroa: nas cúspides e bordas incisais apresenta-se mais espesso e na margem cervical caracteriza-se por ser mais delgado.

O esmalte consiste em colunas alongadas, prismas de esmalte, que estão unidas entre si pelo esmalte interprismático, que variam quanto à sua orientação. Cada prisma se estende através de toda a espessura da camada de esmalte e possui um trajeto sinuoso. O arranjo dos prismas é muito importante para as propriedades mecânicas do esmalte (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os prismas seguem um trajeto relativamente tortuoso nos dois terços internos do tecido do esmalte até alcançar um alinhamento paralelo no terço mais externo, caracterizando uma orientação altamente organizada. Esta mudança mais ou menos regular na direção dos prismas pode ser interpretada como uma adaptação funcional, minimizando o risco de clivagem na direção axial sob influência de forças mastigatórias. (TEN CATE, 2001).

Uma camada de esmalte destituída de prismas medindo aproximadamente 30 µm foi descrita em 70% dos dentes permanentes. Isto ocorre em função de que nem todos os prismas atingem a superfície do esmalte (GWINNETT, 1967). Esta camada aprismática é mais comumente encontrada em fóssulas, fissuras e na região cervical da dentição permanente.

A partir de uma amostra composta de terceiros molares não irrompidos, analisada por meio de microscopia eletrônica de varredura, Fejerskov, Josephsen e Nyvad (1984) constataram que as superfícies do esmalte das faces vestibular e lingual apresentam as mesmas características morfológicas. Entretanto, variações no padrão estrutural da superfície do esmalte foram observadas de acordo com as regiões no sentido cérvico oclusal.

A composição e estrutura do esmalte proporcionam propriedades físicas particulares a este tecido. Devido ao alto conteúdo inorgânico, a dureza do esmalte, expressa em relação à deformação, varia entre 200 a 500 Knoop. Tal variação pode ser atribuída aos diferentes planos do esmalte utilizados nos testes de dureza, o que implica no fato de que os prismas são submetidos aos testes mediante diferentes orientações.

O esmalte dental, embora represente o tecido mais mineralizado e, portanto o mais duro do corpo humano (MJÖR; FEJERSKOV; 1990; TEN CATE, 1998), apresenta certo grau de permeabilidade, que vai diminuindo com o decorrer dos anos (ATKINSON, 1947; TEN CATE, 1998).

A permeabilidade dos dentes difere entre os indivíduos, e em uma mesma pessoa varia de dente para dente (ATKINSON, 1947). Essa diferença ocorre em função do desenvolvimento do dente, da idade (ATKINSON, 1947; KOUTSI et al., 1994; TEN CATE, 1998) ou mesmo em diferentes regiões em um mesmo elemento dental (ATKINSON, 1947; KOUTSI et al., 1994; MAROLI; KHERA; KRELL, 1992).

Por métodos osmóticos, foi possível observar que o esmalte jovem comporta-se como um substrato semipermeável, permitindo a passagem de água e outras substâncias de pequeno tamanho molecular. Com a idade, esses poros diminuem à medida que os cristais adquirem mais íons e aumentam de tamanho (ATKINSON, 1947; TEN CATE, 1998).

Fish (1927) demonstrou a infiltração de corante através da câmara pulpar, estendendo-se além da junção amelodentinária, até quase a superfície do esmalte. O autor observou que os prismas e a substância interprismática mostraram-se praticamente impermeáveis ao corante; porém, imediatamente ao redor de cada prisma, parece haver uma camada orgânica que permite a micro-circulação de um fluido.

A infiltração de substâncias da superfície externa do esmalte em direção à polpa, infiltração centrípeta, foi descrita por Bartelstone (1951). Por meio da aplicação de I^{131} na superfície do esmalte intacto de caninos de oito cobaias, o autor observou a penetração desta substância através do esmalte em direção à dentina e à polpa.

Trabalhos utilizando-se da capacidade de absorção de substância no esmalte têm sido realizados no intuito de calcular o tamanho e a distribuição dos poros no esmalte (DIBDIN; POOLE, 1982; MORENO; ZAHRADNIK, 1973). Por meio de cálculos matemáticos, realizados com base na capacidade de absorção de vapores de água pelo esmalte, Dibdin e Poole (1982) obtiveram um raio de 2 nm para os poros do esmalte. Observou-se que a camada externa do esmalte apresentou menor quantidade de água, 2,7% do seu volume, quando comparada ao restante do esmalte, que apresentou 3,7% do seu volume.

Para estudar a permeabilidade do esmalte, Hoppenbrouwers, Scholber e Borggreven (1986) avaliaram, por meio do método de resistência elétrica, camadas de 100 μ m de espessura a partir do limite amelodentinário de dentes irrompidos e não irrompidos. Observaram que nos dentes irrompidos as duas camadas mais externas apresentaram maior resistência e, dessa forma, menor permeabilidade. Nos dentes não irrompidos, a resistência foi semelhante para todas as camadas analisadas. As alterações na resistência do esmalte em função de sua localização mais próxima ou distante do limite amelodentinário, observadas nos dentes irrompidos, refletem a alteração na permeabilidade do esmalte de acordo com a sua localização em relação ao limite amelodentinário. Uma resistência grande corresponde à baixa capacidade de difusão, e, portanto, uma baixa permeabilidade. Após a irrupção, a permeabilidade das camadas superficiais do esmalte altera-se.

A análise ultra-estrutural da superfície do esmalte revela uma considerável diferença entre dentes irrompidos e não irrompidos. A superfície do esmalte de dentes não irrompidos consiste em uma cutícula superficial não estruturada de aproximadamente 0,5 a 1,5 μ m de espessura. Nos dentes já irrompidos, essa camada não estruturada é rapidamente perdida devido às influências do meio

bucal, como abrasão, erosão e atrição, é possível mostrar que os cristais da superfície de dentes irrompidos são idênticos aos cristais da sub-superfície de dentes não irrompidos (PALAMARA et al., 1980).

Por meio de um sistema de difusão, Kuhar et al. (1997), também verificaram a permeabilidade do esmalte. Essa permeabilidade foi analisada após aplicação de ácido fosfórico 37% por um minuto, cinco minutos e após remoção da camada superficial do esmalte. Observaram que o dano na camada superficial aprismática, tanto provocada por substância química (ácido fosfórico) quanto por fatores físicos (brocas), provocou um aumento significativo na permeabilidade do esmalte. Concluíram que os procedimentos que causam alteração na superfície do esmalte aumentam a susceptibilidade à desmineralização e ao processo de cárie.

Um gradiente dinâmico envolvendo fluidos e o ambiente bucal foi descrito por Bergman (1963), no qual o esmalte participa através de sua estrutura permeável e porosa. Este tecido funciona como uma membrana semi-permeável (DARLING et al., 1961), permitindo a passagem de água e fluidos bucais, mas impedindo a passagem de moléculas de alto peso molecular (POOLE; TAILBY; BERRY, 1963).

A natureza semi-permeável do esmalte possibilita a aplicação de diversas substâncias, tais como aplicação tópica de fluoretos (TEN CATE, 2001), condicionamentos ácidos para procedimentos restauradores adesivos e inclusive agentes clareadores, que poderão interagir de forma diferente, dependendo da natureza da substância aplicada, repercutindo em maior ou menor profundidade neste substrato dental.

À medida que os dentes irrompem na cavidade bucal, tornam-se sujeitos às variações deste meio, bem como a traumas físicos e químicos; com isso, ocorrerão, inevitavelmente, alterações na microestrutura bem como na composição química da

superfície do esmalte. Para excluir tais possibilidades durante a análise da superfície do esmalte, estudos utilizam dentes não irrompidos na intenção de tornar a amostra mais homogênea e livre de tais interferências do meio bucal (FEJERSKOV; JOSEPHSEN; NYVAD, 1984).

Quando o esmalte é exposto a ácidos, os íons de hidrogênio rapidamente dissolvem os minerais do cristal, liberando cálcio e fosfato. Ocorre a redução do tamanho do cristal e ampliação dos espaços intercristalinos. Além disso, durante o processo de dissolução, o carbonato presente na estrutura do esmalte pode também ser liberado, formando espaços que se unem e podem destruir a delicada estrutura de proteína (enamelinas) que circunda os cristais (FEATHERSTONE; DUNCAN; CUTRESS, 1979).

Progressivamente, vai havendo uma alteração nos dentes irrompidos, em função das influências do meio bucal, causando alterações superficiais, alterações de cor e redução na permeabilidade (TEN CATE, 1998). Postula-se que o escurecimento dos dentes com a idade ocorre devido a alterações estruturais, e embora possa ocorrer pela adição de matéria orgânica ao esmalte, pode também estar relacionado à diminuição da espessura do esmalte, possibilitando a visualização da dentina através da fina camada de esmalte. Com a idade, o esmalte vai tornando-se menos permeável, à medida que os poros diminuem pela aquisição de íons pelos cristais (TEN CATE, 1998). 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 (ATKINSON, 1947).

O esmalte dental maduro, na época da irrupção, exhibe uma grande variação regional quanto ao aspecto morfológico de sua superfície. A presença das estrias de Retzius, fissuras, e outras irregularidades contendo proteínas de origem do seu

desenvolvimento, juntamente com os espaços intercristalinos atuam como caminhos para difusão através do esmalte (MJÖR; FEJERSKOV, 1990). O conhecimento do aspecto morfológico “normal” do esmalte dental faz-se fundamental para o estudo e análise das alterações morfológicas após aplicação de qualquer produto que se pretenda estudar.

2.2 CLAREAMENTO DENTAL

2.2.1 Histórico

O interesse para a realização do clareamento dental em Odontologia data do final do século XIX, quando Dwinelle publicou no “American Journal of Dental Science” diversos experimentos com dentes despulpados. Nesse estudo, afirmou que a idéia de clarear dentes lhe havia surgido naturalmente e que tinha utilizado, para tanto, diversos compostos contendo íon cloro, vapores de enxofre e alguns ácidos, como o oxálico; usou ainda o cloreto de cálcio e de sódio, formando uma pasta destes com o fosfato de cálcio. Sugeriu a hipótese de que o mecanismo de ação do cloro provavelmente seria de reagir com os pigmentos de ferro contidos nos tecidos dentais oriundos do sangue, e fazer com que estes saíssem pelas porosidades do dente. Supôs também que o ácido oxálico agisse como um solvente do ferro. Sua conclusão foi a de que os íons de cloro seriam o melhor meio para se eliminar as manchas dos dentes (DWINELLE, 1850).

Em 1861, na revista norte-americana “The Dental Cosmos”, Kingsbury publicou um artigo onde salientou a preocupação da comunidade odontológica com as “descolorações” dentais, resultantes ou da aplicação de nitrato de prata (dessensibilizante dentinário), ou da penetração de sangue nos túbulos dentinários, como em casos de necrose pulpar. Neste trabalho, descreveu suas tentativas em promover o clareamento de dentes afetados nessas situações, pois valorizava a manutenção dos dentes naturais, ou da sua maior integridade possível, em detrimento de tal substituição por elementos ou substâncias artificiais. Frente a esses desafios, descreveu os vários experimentos realizados, até encontrar uma substância que considerou efetiva para o propósito de reduzir as “descolorações”; ilustrou o artigo, descrevendo um experimento bem sucedido em uma paciente jovem, que apresentou necrose pulpar em dois dentes ântero-superiores. Após a abertura da câmara pulpar, colocara um chumaço de algodão contendo tintura de iodo, com o objetivo de “neutralizar o material necrótico”; após essa intervenção, aplicara cianeto de potássio, explicando que isto seria necessário não somente para remover as manchas provocadas pelo iodo, como para agir como um solvente da “hematina”, que seria o corante dos glóbulos vermelhos. Informou que dissolvera dez grãos de cianeto de potássio em água, no momento de sua aplicação, formando uma solução que fora colocada na câmara pulpar, onde permanecera por 5 a 10 minutos, depois de sido lavada com água para remoção total daquela solução. Observou que tal procedimento era mais vantajoso do que o com ácidos e outras substâncias, por produzir efeitos imediatos, na maioria dos casos.

Bogue publicou, em 1872, um artigo no “The Dental Cosmos” onde questionou aspectos de clareamento de dentes com alteração de cor devido ao extravasamento de sangue para dentro dos canalículos dentinários; relatou que,

após o procedimento endodôntico, a cavidade pulpar deveria ser “perfeitamente limpa” e, em seu interior, ser aplicada uma ou duas gotas de solução saturada de ácido oxálico por um tempo de três a seis minutos, o qual agiria como solvente para o íon ferro, existente nas hemácias; a câmara pulpar deveria ser lavada com água, recebendo uma restauração provisória de cimento de oxicloreto de zinco; se não fossem necessárias outras sessões de clareamento, após algum tempo receberia uma restauração definitiva de ouro.

No ano de 1884, Harlan relatou suas experiências bem sucedidas, durante um período de 18 meses, quando propôs um novo tratamento para clareamento de dentes despulpados, em que era necessário o uso de isolamento absoluto. Toda dentina manchada da cavidade pulpar coronária deveria ser removida, devendo esta ser limpa com peróxido de hidrogênio e, então, seca. O agente clareador principal utilizado era o cloreto de alumínio hidratado que, colocado em contato com a dentina seca, recebia uma ou duas gotas de água, iniciando-se o processo de clareamento pela liberação do íon cloro.

Em 1889, Kirk descreveu o que qualificou de possíveis mecanismos químicos do clareamento dental; em seu trabalho, afirmou que o sucesso do clareamento dental estaria na destruição dos pigmentos que afetavam as estruturas dentais, por um agente químico suficientemente adequado para tal propósito. Classificou as substâncias clareadoras em duas classes: as oxidantes e as redutoras; as primeiras destruiriam pigmentos pela remoção de hidrogênio; as segundas o fariam pela remoção do oxigênio. Dentre as substâncias oxidantes, citou o peróxido de hidrogênio, os cloretos e o permanganato de potássio; este último deveria ser reduzido pelo ácido oxálico, senão seu produto final marrom mancharia os tecidos dentais. Descreveu seu método de clareamento, baseado na liberação de ácido

sulfúrico, a partir de uma mistura de sulfito de sódio (100 gramas) com ácido bórico (70 gramas); uma pequena porção desta era colocada na câmara pulpar, onde se adicionava uma gota de água; imediatamente, a cavidade era fechada com gutapercha e assim mantida. Os resultados eram gratificantes, segundo o autor, o clareamento acontecia mais rapidamente do que quando se usava o cloro.

Outros estudos foram realizados em dentes despulpados, avaliando-se novas técnicas (HARLAN, 1891) e agentes clareadores (KIRK, 1893; WESTLAKE, 1895), com o objetivo de identificar um tratamento mais efetivo para a remoção de manchas do dente.

O clareamento de dentes vitalizados com o peróxido de carbamida foi observado por um ortodontista em 1960, que indicava a seus pacientes um anti-séptico contendo peróxido de carbamida a 10%. Porém, a descoberta foi pouco difundida (HAYWOOD; HEYMANN, 1991) e apenas em 1989, quando Haywood e Heymann publicaram um artigo que descrevia a técnica conhecida como “Clareamento de Dentes Vitalizados com moldeira utilizada durante as horas de descanso noturno”, é que esse procedimento se popularizou. A técnica por eles descrita utiliza uma moldeira confeccionada em silicone sobre o modelo de gesso do paciente onde o agente clareador, o peróxido de carbamida 10%, é inserido e o paciente permanece com a moldeira durante a noite, por um período de até 5 semanas.

O clareamento dental consiste na degradação de moléculas de maior peso molecular que refletem determinado comprimento de onda de luz emitida pelo dente, fazendo com que o dente pareça escurecido. O clareamento ocorre graças à permeabilidade da estrutura dental mineralizada e a capacidade de difusão dos agentes clareadores (JOINER; TRAKKER, 2004).

As soluções de peróxido de carbamida são extremamente instáveis na cavidade oral e, imediatamente, se dissociam em peróxido de hidrogênio e uréia. O peróxido de hidrogênio é um forte agente oxidante, que, por sua vez, se degrada em oxigênio e água enquanto a uréia se degrada em amônia e dióxido de carbono (HAYWOOD; HEYMANN, 1991).

Os radicais livres gerados nestas reações químicas de oxidação e redução quebram as moléculas que são convertidas em moléculas cada vez menores, as quais são eliminadas por difusão do interior do elemento dental (HAYWOOD, 1992).

2.2.2 Agentes clareadores - Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

Os materiais clareadores mais frequentemente utilizados em Odontologia são à base de peróxido. Podem ser divididos em duas categorias: aqueles usados no consultório sob alta concentração (peróxido de hidrogênio de 35-38%) e aqueles auto-administrados pelo paciente, sob supervisão do cirurgião-dentista (geralmente, peróxido de carbamida de 10-22%).

A solução de peróxido de hidrogênio vem sendo utilizada para clareamento dental desde 1884, demonstrando sua efetividade para remoção de pigmentos intrínsecos e extrínsecos, tanto em dentes vitalizados como não vitalizados (FORTUNA, 1996).

O H₂O₂ tem sido utilizado tradicionalmente nas concentrações de 35-38%. Por apresentar perda da eficácia quando exposto ao ar, esse agente clareador deve

ser dispensado em recipientes que acomodem pequena quantidade do produto, além de ser armazenado em baixa temperatura e em recipiente escuro (LYNCH et al., 1994, LYNCH et al., 1995). Ho e Goerig (1989) verificaram *in vitro* que o peróxido de hidrogênio armazenado pelo período de um ano apresenta uma perda de eficácia de 20% no clareamento de dentes.

Rotstein e Friedman (1991) revelaram que o peróxido de hidrogênio tem pH ácido, próximo a 3,0. Produtos comerciais contendo H_2O_2 que apresentam pH maior são efetivos como agentes clareadores, embora seu tempo de vida seja negativamente afetado. O peróxido de hidrogênio serve como precursor do radical OH extremamente reativo, que exerce forte ação clareadora sobre moléculas orgânicas cromatogênicas (LYNCH et al., 1995).

Frysh et al. (1995), avaliaram com o uso de um colorímetro a efetividade de um agente clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35% em seu pH original (4,4) e tamponado (pH 9,0), aplicado sobre dentes extraídos e autoclavados. Foi constatado que o peróxido de hidrogênio alcalino é 2,7 vezes mais efetivo que o peróxido de hidrogênio ácido. Acrescentaram, ainda, que o agente alcalino possui a vantagem de causar menor desmineralização na superfície dental que outros agentes ácidos e, que o peróxido de hidrogênio ácido é mais estável e possui um maior tempo de vida.

O peróxido de hidrogênio caracteriza-se por possuir baixo peso molecular e capacidade para desnaturar proteínas. Tem a habilidade de permear o esmalte e a dentina, tendo em vista a porosidade e a permeabilidade seletiva destes substratos. Assim, apresenta capacidade de remover manchas superficiais e também aquelas presentes mais profundamente nos tecidos dentais (BARATIERI, 2001).

É um forte agente oxidante, e, desta forma, preparações contendo este agente ativo são também efetivos clareadores. Podem ser encontrados em concentrações variáveis, e, devido à sua natureza cáustica, quando empregado deve ser utilizado apenas no consultório e sob isolamento absoluto. Para o clareamento caseiro, o peróxido de hidrogênio também é indicado, porém em concentrações, geralmente, de 10% a 22% (PAPATHANASIOU; BARDWELL; KUGEL, 2001).

2.2.3 Mecanismo de ação química dos agentes clareadores

O exato mecanismo de ação dos agentes clareadores ainda vem sendo discutido. Segundo Conceição (2000), os agentes clareadores à base de peróxidos possuem baixo peso molecular e uma capacidade de desnaturar as proteínas, aumentando assim, a permeabilidade da estrutura dental e, conseqüentemente, o movimento de íons neste substrato. Por um processo de oxidação, as substâncias clareadoras atuam nos materiais orgânicos pigmentados (macromoléculas), convertendo-os em dióxido de carbono e água, gerando a diminuição ou a eliminação do pigmento por difusão, produzindo assim, moléculas menos complexas, de peso molecular reduzido e que retém menos luz (BARATIERI et al., 1995; FLAITZ; HICKS, 1996; MENDONÇA; PAULILLO, 1998).

Os agentes à base de peróxido podem produzir radicais livres altamente reativos. Esses radicais livres, derivados do oxigênio, degradam a molécula cromatogênica orgânica em moléculas menores, e menos pigmentadas, via processo oxidativo ou, ocasionalmente, por redução. Já o processo de clareamento

de manchas provocadas por substâncias inorgânicas ainda não está totalmente estabelecido (LYNCH et al., 1995).

A difusão do H_2O_2 através da dentina está relacionada ao tempo de aplicação, à concentração e ao tipo de agente clareador utilizado (FAT, 1991). De acordo com Rotstein, Terek e Lewinstein (1991), quando há um aumento de temperatura de 24°C para 37°C, praticamente dobra-se a quantidade de H_2O_2 que penetra nos tecidos dentais. Além disso, segundo Haywood (1992), a rapidez da reação oxidante depende da concentração e do nível de peroxidase salivar.

O tempo de exposição ao agente clareador, assim como a sua concentração, influencia no grau de clareamento dos dentes. No entanto, faz-se prudente o uso de um produto que possua maior eficácia possível, causando mínimo efeito deletério sobre os tecidos dentais, bem como sobre os tecidos moles adjacentes.

2.2.4 Técnicas de clareamento em dentes vitalizados

Quatro diferentes técnicas para clareamento de dentes vitalizados têm sido reconhecidas:

1. Técnica de consultório, “In office” ou “Power Bleaching”: consiste na aplicação do agente clareador pelo profissional, em consultório, e, na maioria das vezes, realizada com peróxido de hidrogênio de 30% a 38% (GULTZ et al., 1999; HIRATA, 1997; PAPATHANASIOU; BARDWELL; KUGEL, 2001).
2. Clareamento supervisionado pelo dentista: o paciente permanece no consultório durante o período do tratamento clareador, com uma moldeira posicionada sobre os

dentês, contendo o peróxido de carbamida gel em altas concentrações, 35% ou 40%, por 30 minutos a 2 horas (HIRATA, 1997).

3. Clareamento acompanhado pelo dentista, conhecida como técnica caseira, doméstica, ou “nightguard bleaching”. O agente clareador utilizado nesta técnica é à base de peróxido de carbamida em baixa concentração, variando de 10% a 22%. A eficácia desta técnica decorre de uma combinação da solução clareadora e do tempo de tratamento (LEONARD JR; SHARMA; HAYWOOD, 1998).

4. “Over-the-counter”. Esta é uma forma de clareamento em que o produto é adquirido diretamente em casas comerciais e aplicado sem qualquer acompanhamento ou supervisão de um profissional. A eficácia desses produtos é questionável e pode levar a resultados indesejáveis (CUBBON; ORE, 1991).

Para avaliar as vantagens e desvantagens das técnicas de clareamento em dentes vitalizados, Barghi, em 1998, revisou os riscos, efetividades e fatores clínicos que influenciam na escolha de uma determinada técnica de clareamento. Segundo o autor, a seleção da técnica deve ser baseada no número de dentes envolvidos, no tipo e severidade de alteração de cor, na presença ou ausência de sensibilidade dental, no tempo, custo e limitações de cada paciente. O conhecimento dos produtos e técnicas disponíveis, bem como das indicações, proporcionarão resultados mais satisfatórios tanto na técnica caseira quanto na técnica em consultório.

2.2.5 Efeitos dos agentes clareadores no esmalte - Microdureza

Trabalhos *in vitro* têm demonstrado alterações nos tecidos dentais mineralizados após o uso de materiais clareadores, como o peróxido de hidrogênio

quando utilizado só (BARBOSA; SAFAVI; SPÄNGBERG, 1994; PÉCORA et al., 1994) ou misturado ao perborato de sódio (LEWINSTEIN et al., 1994; PÉCORA et al., 1994; ROTSTEIN; LEHR; GEDALIA, 1992), peróxido de carbamida (BEN-AMAR et al., 1995; JOSEY et al., 1996; McCracken; HAYWOOD, 1996; PÉCORA et al., 1994), pasta de perborato de sódio e água (PÉCORA et al., 1994) ou simplesmente o peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações (LEE et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2005; PÉCORA et al., 1994; PINTO et al., 2004; ROTSTEIN et al., 1996; ZALKIND et al., 1996) nas técnicas de clareamento dental.

Murchinson, Charlton e Moore (1992) avaliaram a influência de três tipos de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida na resistência adesiva e na microdureza do esmalte dental. Foram selecionados 80 pré-molares divididos em quatro grupos, com aplicações diárias por cinco dias consecutivos, utilizando três produtos comerciais distintos. Após cada dia de tratamento, os dentes foram lavados com água deionizada para remoção do peróxido de carbamida e estocados em saliva artificial. Para a análise da microdureza do esmalte, cinco dentes de cada grupo foram separados. Três medidas foram feitas para cada dente, tomadas antes e após o tratamento clareador, obtendo-se a média final das três aferições. De acordo com os resultados, os autores concluíram que o tratamento clareador com peróxido de carbamida em curto tempo não afeta os procedimentos adesivos e a microdureza superficial do esmalte.

Shannon et al. realizaram, em 1993, um estudo combinando a aplicação de agentes clareadores *in vitro*, por 16 horas, e um período restante sob o efeito *in situ* da saliva humana. Fragmentos de esmalte foram obtidos a partir de molares humanos não erupcionados. Foram selecionados voluntários e confeccionados

aparelhos individuais para a fixação dos fragmentos. Em seguida, os aparelhos foram expostos a uma das três marcas comerciais de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10% ou à saliva artificial por 16 horas e foram levadas aos voluntários para utilizarem os aparelhos por oito horas, removendo-os somente para higiene bucal por dois minutos. Nos finais de semana, os aparelhos foram imersos oito horas em saliva artificial. Após duas e quatro semanas, foram realizadas avaliações de microdureza e da morfologia da superfície do esmalte através de microscopia eletrônica de varredura. Os valores de dureza obtidos na segunda semana demonstraram que os dentes clareados possuíam valores de microdureza inferior aos controles, porém não demonstraram diferenças estatísticas. Houve um aumento estatístico significativo nos valores de dureza entre os grupos clareados da segunda para a quarta semana; entretanto, os fragmentos clareados na quarta semana também não diferiram do grupo controle. Os autores sugeriram que o esmalte foi exposto ao processo de desmineralização pela ação dos agentes clareadores, alternando com processos de remineralização causados pela saliva humana.

Através da avaliação da microdureza de dentes tratados com peróxido de hidrogênio a 30% ou uma pasta de perborato de sódio e peróxido de hidrogênio a 30% aquecido a 37°C ou 50°C por intervalos de 5, 15 e 30 minutos, Lewinstein et al. (1994) notaram alterações significativas com o uso do peróxido de hidrogênio após o tempo de cinco minutos para dentina e 15 minutos para esmalte, sem diferenças em relação à aplicação do calor. Essas alterações foram de maior severidade com o aumento do tempo de tratamento com o peróxido de hidrogênio. A mistura de peróxido de hidrogênio a 30% e perborato de sódio (pH 8,0) não alterou a

microdureza da dentina ou esmalte. Os autores relacionaram a queda de microdureza não apenas a um efeito nos componentes inorgânicos, mas também à matriz orgânica. Como a dentina possui uma maior fase orgânica, apresentou uma perda de dureza em menor tempo.

Em 1994, Leonard, Bentley e Haywood estudaram as mudanças do pH salivar, em procedimentos de clareamento caseiro com peróxido de carbamida a 10%, pois a desmineralização do esmalte poderia ocorrer já em pH entre 5,2 a 5,8, e alguns agentes clareadores possuem pH ainda mais ácido (entre 4,8 e 5,2), que poderia aumentar o risco de cárie, pela desmineralização do esmalte. No decorrer de vinte sessões de clareamento caseiro, mediram o pH salivar, entre as 13h30 e 17h00, sendo que os colaboradores foram orientados a não comer, beber ou fumar, duas horas antes de cada mensuração. Os autores observaram significativa queda do pH nos primeiros cinco minutos de avaliação; puderam notar que aos dez minutos essa diferença deixou de existir e que o valor do pH aumentou, até o final do experimento. Advertiram que os dentistas não deveriam pensar apenas na melhora estética do sorriso de seus pacientes, mas também que poderia existir um risco maior de desmineralização dos tecidos dentais; no entanto, afirmaram que tal risco era pequeno quando do uso do peróxido de carbamida, pois os produtos resultantes da decomposição desse peróxido (principalmente a uréia) tendiam a elevar o pH.

Leonard et al. (1994) verificaram as alterações do pH da placa dental e da solução de peróxido de carbamida a 10%, ocorridas durante o processo de clareamento de dentes vitais, por duas horas; após verificar os valores iniciais do pH, para a placa e para o peróxido de carbamida, criaram um pequeno orifício na região anterior da moldeira, para permitir a colocação do eletrodo do pH-metro. Mediram o

pH do peróxido de carbamida, a intervalos de 5 minutos, sendo que depois de 2 horas removeram a moldeira e o pH da placa com saliva foi novamente medido; puderam verificar que o pH inicial da placa foi de 6,31 e a média final foi de 6,86, o que consideraram como diferença significativa. Constataram que, no momento da colocação do peróxido de carbamida na moldeira, seu pH era de 4,5 e no final encontraram uma diferença estatisticamente significativa no valor de 8,06; notaram que os valores do pH da placa dental, da saliva e do peróxido de carbamida contido dentro da moldeira aumentaram significativamente durante o processo de clareamento, tendo permanecido altos por todo o período de avaliação; sugerem que isso ocorreu possivelmente devido à característica muito instável do peróxido de carbamida a 10 %, intraoralmente, pois ele se dissocia em 3% de peróxido de hidrogênio e 7% de uréia, que por sua vez, respectivamente, se dissociariam em água + oxigênio e amônia + gás carbônico. Os autores ainda mencionam que tais reações seriam catalisadas por enzimas salivares, como peroxidases e catalases, encontradas em muitos fluidos orgânicos e em algumas bactérias; que o peróxido de hidrogênio seria o ingrediente ativo do peróxido de carbamida, atóxico e não alergênico, capaz de destruir uma grande variedade de microorganismos; que a uréia seria uma substância bacteriostática, capaz de dissolver tecido necrótico, permitindo com que uma ferida se cicatrizasse rapidamente; e que a liberação de amônia e dióxido de carbono, durante a degradação da uréia, elevariam o valor do pH, reduzindo assim, o risco em relação a uma possível desmineralização do esmalte dental.

Em 1995, Lee et al. avaliaram a efetividade e os efeitos superficiais de agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35 e a 50% em fragmentos de esmalte humano. A avaliação da cor e os ensaios de microdureza foram

realizados antes e após uma e duas horas de exposição aos agentes clareadores e, em seguida, os fragmentos foram avaliados em microscopia eletrônica de varredura. Os agentes clareadores foram capazes de alterar significativamente a cor dos fragmentos; porém, essa alteração não foi significativa entre as aplicações. Não ocorreram alterações significativas na microdureza do esmalte, entretanto, a microscopia eletrônica de varredura revelou a presença de porosidades e trincas, com possível remoção da matriz orgânica e mineral. Foram observadas muitas áreas hipomineralizadas, sendo estas mais evidentes após o tratamento com peróxido de hidrogênio a 50%.

McCracken e Haywood, em 1995, avaliaram a microdureza do esmalte dental humano após a aplicação de dois tipos de peróxido de carbamida a 10%, sendo que um deles possuía pH 5,3 e carbopol e, o outro, pH 7,2, mas sem carbopol. Após 24 aplicações de uma hora, em três dias, os fragmentos foram polidos e a microdureza subsuperficial foi avaliada. Somente foi encontrada alteração na profundidade de 25 μm com a aplicação do peróxido de carbamida ácido contendo o espessante. Entretanto, não se pode afirmar se o responsável pela perda de mineral foi o pH ácido ou o carbopol. O agente clareador sem carbopol não demonstrou diferenças na microdureza subsuperficial. Os autores confrontaram seus resultados com os de outros trabalhos, considerando que a perda de mineral, ocorrida somente subsuperficialmente na profundidade de 25 μm , é clinicamente de pouca relevância frente ao condicionamento ácido ou a uma profilaxia, que removem cerca de 5 μm a 50 μm do esmalte.

Attin et al., em 1997, avaliaram o efeito de um gel à base de peróxido de carbamida a 10% sobre a microdureza do esmalte dental bovino associado a aplicações de flúor e imersão em solução remineralizadora. Os espécimes foram

expostos por 12 horas ao gel e, em seguida, imersos em uma saliva artificial durante oito horas, sendo que um grupo experimental foi imerso previamente, por um minuto, em uma solução de 0,2% de flúor; em outro grupo foi aplicado verniz fluoretado 2,23% por uma hora. Após dois e quatro dias de tratamento, foram realizados ensaios de microdureza pelos quais foi constatada uma diminuição estatisticamente significativa e progressiva da microdureza do esmalte dental clareado; entretanto, o grupo não exposto aos fluoretos demonstrou a maior perda mineral. Dessa forma, a queda de microdureza superficial do esmalte foi reduzida pela aplicação de fluoretos no período de remineralização durante o tratamento clareador.

Em 1998, Smidt et al., avaliaram o efeito de três agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10% sobre a microdureza do esmalte dental humano. Após 16 dias de tratamento clareador, por seis horas diárias, e armazenamento intermediário em solução salina, os agentes clareadores causaram uma perda de dureza estatisticamente significativa, indicando desmineralização do esmalte.

Potocnik, Kosec e Gaspersic, em 2000, avaliaram o efeito da aplicação de um gel de peróxido de carbamida a 10% sobre o esmalte dental humano. Após a aplicação do clareador, os dentes foram preparados para avaliação da microdureza subsuperficial, a qual não demonstrou diferenças estatísticas; entretanto, os autores relatam a ocorrência de uma alta variabilidade nos valores obtidos devido a grande diferença entre a estrutura mineral e a configuração dos cristais de esmalte de diferentes dentes. Em seguida, as concentrações de Ca e P nos dentes foram avaliadas. Houve uma grande diminuição na concentração cálcio, o que demonstrou perda de mineral. Porém, os autores afirmaram que essa perda foi sutil e não detectável através do ensaio de microdureza. Foi notado, ainda, um aumento na concentração de Ca no gel clareador, sugerindo uma perda de mineral para o gel.

Foi concluído que peróxido de carbamida a 10% causa mudanças locais, químicas e microestruturais no esmalte dental, porém, clinicamente insignificante.

Com base nos guias de aceitação dos produtos clareadores dentais pela American Dental Association (ADA), Siew (2000), descreveu alguns requisitos para testes laboratoriais e clínicos realizados para avaliar os agentes clareadores. Dentre eles, afirmou que o esmalte de terceiros molares humanos é aceitável para representar o esmalte de dentes anteriores. Nos testes de dureza, devem ser realizadas de três a cinco edentações antes e depois da aplicação dos géis clareadores e que estes devem ser utilizados como indicado pelos fabricantes.

Riehl, em 2001, discorreu sobre o efeito dos diversos tipos de agentes clareadores sobre o esmalte dental superficial, fato que sempre preocupou a maioria dos clínicos e pesquisadores. Questionava-se se os agentes clareadores promoveriam a desmineralização do esmalte, colocando em dúvida se tais produtos eram ou não nocivos. Alguns produtos clareadores caseiros (peróxido de carbamida), por conterem ácidos em suas composições e, por isso, possuírem um pH levemente mais baixo (6,5), levaram alguns pesquisadores a acreditar que os mesmos poderiam promover algum grau de desmineralização do esmalte. A justificativa disso deve-se ao fato da maior estabilidade dos peróxidos na presença de ácidos fracos (maleico, por exemplo) ou de pequenas quantidades de ácidos fortes (fosfórico, por exemplo). Clinicamente, esses produtos se decompõem, como por exemplo, o peróxido de carbamida (10 a 22%) que, ao entrar em contato com os dentes e a saliva desdobra-se em peróxido de hidrogênio (3 a 7,5%) e uréia (7 a 15,5%), respectivamente. O peróxido de hidrogênio degrada-se em oxigênio nascente e água, enquanto que a uréia desdobra-se em amônia e dióxido de carbono; a presença da amônia como subproduto da reação, faz com que haja a

elevação do pH. O autor descreve sua teoria sobre o que aconteceria, hipoteticamente, com o esmalte superficial no momento da ação do clareamento. Levando-se em conta que o esmalte é um tecido vivo, são possíveis as trocas iônicas entre sua superfície e soluções contendo flúor. Um mecanismo parecido ocorre com o íon O^- (oxigênio nascente), pois ele penetra pelos poros do esmalte alcançando a dentina e muitas vezes, em concentrações baixíssimas, a polpa. Quando tal íon está em quantidade exagerada, como é o caso de peróxidos potentes (de hidrogênio a 35%) por longos períodos de tempo, suspeita-se que não atuaria somente sobre as moléculas de pigmentos (fracamente ligadas ao esmalte e à dentina). Agiria também, de maneira pouco seletiva, sobre as proteínas que compõe a matriz do esmalte. Havendo a degradação da matriz, que reveste cada prisma, estes prismas ficariam sem suporte e se fraturariam, originando uma imagem, à luz da microscopia eletrônica de varredura, composta de irregularidades que lembram o esmalte condicionado por ácido fosfórico. Isso comprovaria o que se observa clinicamente onde, com exagerado tempo de aplicação de potentes peróxidos, o esmalte perderia o brilho ao final do procedimento clareador e manteria essa aparência fosca por várias sessões clínicas. Mesmo após sessões de polimento com discos abrasivos e aplicação tópica de flúor, o aspecto sem brilho permaneceria. Sugere-se a adoção de substâncias clareadoras mais ou menos potentes, considerando o tempo de aplicação de cada tipo, pois o principal problema poderia ser o aparecimento e a manutenção de um esmalte poroso, o que acarretaria em novo e rápido manchamento extrínseco.

Rodrigues et al., em 2001, realizaram um estudo *in vitro*, avaliando o efeito de duas marcas comerciais de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10% sobre a microdureza do esmalte dental, em função do tempo de clareamento.

Fragmentos de esmalte foram obtidos a partir de terceiros molares inclusos recém-extraídos. O tratamento clareador consistiu na aplicação dos géis por oito horas diárias durante 42 dias e imersão durante o período restante em uma solução remineralizadora similar à saliva humana. Foram realizados ensaios de microdureza Knoop antes e após 1, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de tratamento. Os valores de dureza obtidos demonstraram um aumento estatístico na microdureza dos fragmentos dentais tratados com um dos agentes clareadores, a partir do sétimo dia de tratamento com um pico de dureza após 21 dias de tratamento, quando diminuiu, tornando-se similar ao grupo controle. O grupo controle permaneceu com a mesma média de dureza durante todo o experimento. O outro agente avaliado, cuja literatura indica ter um baixo pH, sofreu uma queda nos valores de microdureza, que foi estatisticamente significativo a partir do 21º dia de tratamento em relação ao grupo controle. Os resultados sugeriram que o pH dos agentes clareadores pode influenciar na perda de mineral; entretanto, pode-se esperar que *in vivo* essa perda de mineral não ocorra, ou mesmo seja menor em função da presença da saliva.

Cimilli e Pameijer, em 2001, submeteram fragmentos de esmalte humano ao tratamento clareador utilizando quatro marcas comerciais de peróxido de carbamida, duas com concentração de 10%, uma de 15% e outra de 16%, tendo o grupo controle armazenado em água destilada. Os agentes foram aplicados por seis horas diárias, sendo nas 18 horas restantes imersos em água destilada, durante cinco ou dez dias. Em seguida, os 28 fragmentos foram submetidos a diferentes avaliações de microdureza superficial e subsuperficial (100 μm) e análises de espectrofotometria e difração de raios-X. Todos os grupos clareados apresentaram valores de microdureza superficial estatisticamente inferior ao grupo controle após cinco ou dez dias. Os valores de microdureza subsuperficial foram estatisticamente

inferiores aos de dureza superficial, com exceção do grupo tratado com os agentes à base de peróxido de carbamida a 10%. O grupo tratado com peróxido de carbamida a 16% apresentou os menores valores de dureza superficial e subsuperficial em relação ao controle, embora o peróxido de carbamida a 15% não tenha diferido do grupo controle na dureza subsuperficial. As análises de espectrofotometria e de difração de raios-X demonstraram haver perda de mineral.

Basting, Rodrigues e Serra, em 2001, avaliaram *in situ* o efeito do peróxido de carbamida a 10% na microdureza do esmalte e dentina, e concluiu-se que o agente clareador utilizado alterou a microdureza do esmalte, no entanto não apresentou alterações na microdureza da dentina.

Basting, Rodrigues e Serra (2003), avaliaram o efeito de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10%, 15%, 16%, 20% e 22% e um agente à base de carbopol e glicerina sobre a microdureza do esmalte antes e após oito horas, 7, 14, 21, 28, 35 e 48 dias de tratamento e sete e 14 dias após o encerramento do clareamento. Os resultados obtidos demonstraram haver uma queda estatisticamente significativa na microdureza do esmalte dental logo após o tratamento clareador para todos os agentes clareadores inclusive no grupo tratado com carbopol e glicerina. A análise de regressão demonstrou haver um comportamento semelhante entre os agentes clareadores. Entretanto, no período pós-clareamento, houve um aumento nos valores de dureza, porém, somente os grupos tratados com peróxido de carbamida a 15% e 20%, que apresentavam substâncias remineralizantes, tiveram aumento estatisticamente significativo acima dos valores de dureza iniciais. Concluiu-se que os agentes clareadores podem causar a desmineralização do esmalte. Porém, a concentração não influenciou a microdureza do esmalte. Quando necessário, pode-se optar pelo uso de agentes em

maior concentração. Espera-se ainda que, clinicamente, o esmalte alcance a dureza inicial pela ação da saliva.

De Oliveira et al., em 2003, avaliaram a microdureza do esmalte dental humano durante o tratamento clareador associado à aplicação de dentifrícios dessensibilizantes com ou sem flúor. O gel clareador utilizado foi à base de peróxido de carbamida a 10% com pH 6,2, o qual havia demonstrado efeito desmineralizador em estudos preliminares, comparado a um gel placebo de carbopol usado como controle. O regime clareador consistiu na aplicação do gel clareador ou placebo em fragmentos embutidos por meio de uma moldeira individual, durante oito horas diárias, imersos em uma solução remineralizadora similar à saliva artificial. Após o tratamento clareador, foram expostos a uma solução de dentifrício e água por cinco minutos e, nas 16 horas remanescentes, os fragmentos foram imersos em uma nova solução remineralizadora. Ensaios de microdureza foram realizados antes, após oito horas e 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de clareamento e após 7 e 14 dias de encerrado o regime clareador. Os grupos tratados com o agente placebo não diferiram na microdureza ao longo do experimento. Nos grupos clareados, logo após a aplicação do agente clareador (8h), foi notada uma leve queda na microdureza; entretanto, houve um aumento de dureza estatisticamente significativo em função do tempo de clareamento. Esse aumento está diretamente relacionado à possibilidade de uma leve desmineralização causada pelo agente clareador sucedida por um grande período de remineralização iniciado pelos dentifrícios dessensibilizantes seguido pela imersão na solução de saliva artificial. Dessa forma, pode-se esperar que uma possível desmineralização causada pelos agentes clareadores possa ser clinicamente revertida pela ação de dentifrícios e da saliva.

Em 2004, Pinto et al., avaliaram a rugosidade, microdureza e morfologia 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: controle, Whiteness Perfect - peróxido de carbamida a 10% (PC 10%), Colgate Platinum - PC 10%, Day White 2Z - peróxido de hidrogênio a 7,5% (PH 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. O grupo controle permaneceu sem tratamento e armazenado em saliva artificial. Os resultados revelaram uma redução significativa nos valores de microdureza e um aumento significativo da rugosidade de superfície após o clareamento. Concluiu-se que os agentes clareadores podem alterar a microdureza, rugosidade e morfologia superficial do esmalte dental.

Oliveira et al., em 2005 realizaram estudo *in vitro* onde avaliaram a microdureza superficial do esmalte após o clareamento com peróxido de carbamida a 10% (PC) contendo cálcio ou flúor. Noventa e oito blocos dentais de esmalte foram divididos em sete grupos experimentais: sem clareamento e armazenado em saliva artificial; 10% (PC); 10% PC + 0,05% cálcio; 10% PC + 0,1% cálcio; 10% PC + 0,2% cálcio; 10% PC + 0,2% flúor; e 10% PC + 0,5% flúor. Os géis clareadores foram aplicados por 6 h durante 14 dias e após cada dia de tratamento, os espécimes foram armazenados em saliva artificial. A microdureza superficial foi mensurada antes (*baseline*), durante (7° dia), imediatamente após o clareamento (14° dia) e 1 semana após o fim do tratamento clareador. Os tratamentos clareadores reduziram significativamente a microdureza durante (7° dia), imediatamente após o clareamento (14° dia) e 1 semana após o seu término, quando comparados aos

valores iniciais (*baseline*) e aos do grupo controle. Os achados deste estudo sugerem que, a despeito da adição de cálcio e flúor, todos os géis clareadores afetaram a microdureza superficial do esmalte.

Ainda em 2005, Rodrigues et al., avaliaram *in situ* a microdureza do esmalte dental humano utilizando técnicas de clareamento tanto em consultório como caseiro. Utilizaram 88 fragmentos de esmalte cimentados nas faces vestibulares dos primeiros molares de 44 voluntários. Os voluntários foram divididos em 4 grupos: G1- clareamento de consultório com PC a 37% + caseiro PC10%; G2 – clareamento em consultório PC 36% + caseiro com placebo; G3 – consultório com placebo + caseiro PC 10%; G4 – consultório e caseiro com placebo. Após 3 semanas de experimento concluiu-se que o clareamento em consultório com PC 37%, o clareamento caseiro com PC 10% e a combinação de ambas as técnicas, reduziram a microdureza do esmalte humano avaliado.

Em 2006, Cervantes et al., realizaram um estudo da microdureza do esmalte bovino submetido ao clareamento em consultório com peróxido de hidrogênio a 35%, ativado por diferentes fontes de luz. Foram utilizadas 20 coroas de incisivos, seccionadas e polidas em quatro fragmentos e incluídos em resina acrílica. As amostras foram divididas em quatro grupos de estudo: laser de diodo (grupo A), LED (grupo B), sem ativação por luz/ controle (grupo C) e laser de Nd:YAG (grupo D). A leitura da microdureza das amostras foi realizada antes e após o tratamento clareador, obtendo-se assim a 1ª e 2ª leituras, respectivamente. Em seguida, as amostras foram armazenadas em saliva artificial por 14 dias à $\pm 37^{\circ}\text{C}$, sendo tomada uma 3ª leitura da microdureza após esse período. A análise estatística revelou diferença estatística entre a 1ª e 2ª leitura, nos quatro grupos estudados. Os grupos A, B e C mostraram diferença significativa entre a 1ª e 3ª leitura, com exceção do

grupo D. Concluiu-se que o tratamento realizado sem ativação por luz ou com LED, levou a mesma alteração da microdureza do esmalte. O laser de diodo alterou a dureza da superfície de esmalte sem recuperação da microdureza após 14 dias. No grupo do Nd:YAG houve aumento da microdureza da superfície após o período de armazenamento.

Ainda em 2006, Ferreira et al., descreveram o efeito de quatro diferentes marcas comerciais de peróxido de hidrogênio de uso caseiro na microdureza do esmalte. A microdureza analisada foi a Vickers, utilizando uma carga de 100g por 30 segundos. Após o tempo de clareamento, as amostras foram armazenadas em saliva artificial. Os resultados mostraram que nenhuma das marcas comerciais usadas teve seus valores de microdureza Vickers reduzido.

No ano seguinte (2007), Rodrigues, Oliveira e Amaral, avaliaram *in vitro* o efeito do clareamento caseiro sobre a microdureza do esmalte após o uso de agentes clareadores com e sem carbopol como espessante. Fragmentos de esmalte bovino foram aleatoriamente divididos em 4 grupos de acordo com o tratamento experimental: G1: carbopol a 2%; G2: peróxido de carbamida a 10% com carbopol; G3: carbowax; G4: peróxido de carbamida a 10% com poloxamer. O clareamento foi realizado diariamente por 4 semanas em saliva artificial. A microdureza do esmalte foi avaliada antes (t_0) e após 7 (t_1), 14 (t_2), 21 (t_3), 28 (t_4), e 42 (t_5) dias do início do tratamento. Os agentes clareadores e espessantes não causaram alterações na microdureza do esmalte.

Em 2008, Maia et al., descreveram a respeito da influência de 2 sistemas de clareadores caseiros (peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio a 7,5%) na microdureza do esmalte. Um experimento *in situ* que contou com 10 voluntários. Foram obtidos 90 fragmentos de esmalte provenientes de terceiros

molares extraídos, tiveram seus valores de microdureza Knoop iniciais aferidos. As amostras foram divididas em 3 grupos: 2 experimentais e 1 grupo controle. Os voluntários foram instruídos a utilizarem os aparelhos contendo os fragmentos de esmalte durante 1 hora ao dia, por 21 dias consecutivos. Concluiu-se que os valores de microdureza de esmalte não apresentaram alterações significativas em nenhum dos grupos do estudo. Observou-se ainda que a textura superficial do esmalte tratado com peróxido de carbamida a 10% manteve-se inalterada. O esmalte tratado com o peróxido de hidrogênio a 7,5% apresentou pequena alteração na morfologia superficial, no entanto não foi o suficiente para modificar a sua microdureza.

Faraoni-Romano, Turssi e Serra, em 2009, realizaram um estudo *in situ* triplo cego, avaliando a microdureza do esmalte e da dentina radicular, quando submetidos ao peróxido de carbamida a 10%, no clareamento caseiro. Concluiu-se que o clareamento caseiro noturno não causa alterações na microdureza do esmalte. Ainda em 2009, Attin et al., publicaram uma revisão dentre os inúmeros trabalhos publicados na literatura, os quais utilizam o teste da microdureza (Knoop e Vickers) como fator de avaliação nos procedimentos de clareamento externo. Concluiu-se que os estudos que simularam condições intra-orais o mais próximo da realidade clínica, tiveram menores reduções dos valores de microdureza de esmalte, quando comparadas às outras técnicas cuja condição *in situ* ou *in vivo*, não tenham sido reproduzida. Portanto, mais experimentos *in situ* e *in vivo* se fazem necessários para a confirmação das alterações da microdureza no esmalte humano, frente às diferentes técnicas de clareamento dental.

Após a revisão de literatura deste tema, é possível verificar que ainda existem divergências de resultados, escassez de informações em relação ao uso dos peróxidos de hidrogênio em altas concentrações como agentes clareadores, bem

como a influência das condições intra-orais sobre a estrutura dental clareada. Desta forma, considera-se importante a realização de estudos *in situ* e *in vivo* que contribuam para resultados mais conclusivos em relação ao tema.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo *in situ* foi avaliar a microdureza do esmalte dental humano submetido ao clareamento com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (25% e 35%), em diferentes tempos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos Éticos

Foram utilizados 40 dentes terceiros molares humanos inclusos, extraídos por motivos não relacionados a esta pesquisa, obtidos no Banco de Dentes Humanos da FOUSP. O projeto de pesquisa foi submetido à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, tendo sido aprovado (Anexo A).

Fase experimental *in vitro* - Obtenção dos fragmentos de esmalte

As unidades experimentais foram compostas por 80 fragmentos de esmalte dental humano, obtidos de 40 terceiros molares inclusos com extração indicada.

Imediatamente após a extração, os terceiros molares foram mantidos em solução de timol a 1%, pH 7.0 e os tecidos periodontais ainda aderidos ao elemento dental foram removidos com curetas periodontais. Os dentes extraídos foram seccionados com auxílio de um disco diamantado dupla-face (K.G.Sorensen. Barueri, SP, Brasil, 06454-920) montado em motor de baixa rotação com refrigeração (Kavo do Brasil, Joinville, SC, Brasil, 89221-040), dividindo a porção radicular da porção coronária do elemento dental.

Os fragmentos de esmalte foram obtidos a partir do corte longitudinal no sentido méso distal dos terceiros molares, onde cada terceiro molar ficou dividido em duas partes, uma metade vestibular e outra metade lingual ou palatina.

A razão pela eleição destas faces se dá por estudos de amostras compostas de terceiros molares não irrompidos, analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura, Fejerskov, Josephsen e Nyvad (1984) constataram que as superfícies do esmalte das faces vestibular e lingual apresentam as mesmas características morfológicas.

Em cada uma dessas metades, no terço médio destas faces, foi obtido o fragmento dental, com dimensões aproximadas de 3 X 3 X 2 mm.

Quanto à espessura da unidade experimental, padronizou-se que todos os fragmentos de esmalte tivessem sido obtidos do terço médio destas faces, região coronária mais plana e de menor convexidade (Gwinnett, 1992). Os fragmentos que apresentaram fissuras e trincas de superfície após observação em lupa estereoscópica a 30X foram descartados (RODRIGUES et al., 2001).

É de suma importância, a obtenção de fragmentos experimentais o mais padronizado possível quanto à sua origem e estrutura, a fim de minimizar eventuais alterações que possam ocorrer frente à grande variação dos padrões encontrados no esmalte (SPALDING; TAVEIRA; ASSIS, 2003). Variações estas, atribuídas aos diferentes planos de orientação dos prismas de esmalte utilizados nos testes de microdureza, portanto, torna-se necessário que um critério bem estabelecido seja adotado para que análises comparativas dos efeitos dos clareadores possam ser bem interpretadas.

As superfícies externas dos fragmentos de esmalte foram polidas em Politriz (Buhler Olympus Japan), sob refrigeração constante. Foram utilizados discos de lixa de óxido de alumínio em uma seqüência de granulação de 400, 600 e 1000 (Carborundum/3M do Brasil Ltda, Sumaré, SP, Brasil, 13001-970), sob refrigeração com água. Em seguida, os fragmentos foram polidos com auxílio de pastas

diamantadas (6, 3, 1 e $\frac{1}{4}$ μm) e disco de feltro (Arotec Ind. e Com. Ltda., Cotia, SP, Brasil, 06709-150).

Logo após o preparo e obtenção dos fragmentos dentais, estes fragmentos de esmalte tiveram sua microdureza Knoop inicial aferida e registrada pelo microdurômetro (HMV – Shimadzu Japan) (Figura 4.1), representando a leitura inicial (*baseline* – grupo controle) em tempo zero (t_0).



Figura 4.1 - Microdurômetro HMV - Shimadzu Japan

Clareamento dos fragmentos de esmalte

Após a leitura inicial de microdureza Knoop dos fragmentos de esmalte, estes foram clareados seguindo-se o protocolo preconizado pelo fabricante.

Os agentes clareadores utilizados foram o Lase Peroxide Sensy (peróxido de hidrogênio a 35%) e Lase Peroxide Sensy II (peróxido de hidrogênio a 25%) (DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brasil) cujas características químicas estão descritas no quadro 4.2. O clareamento foi realizado em duas sessões semanais, totalizando 14 dias de experimento. Cada sessão foi realizada conforme descrito no item “Preparo clínico dos voluntários”.

Imediatamente após a primeira sessão de clareamento, foi mensurado novamente a microdureza Knoop (pós-procedimento clareador), registrando-se, então, dados referentes à microdureza imediatamente após o clareamento, o que denominamos de microdureza em tempo 1 (t_1).

Por fim, todos os fragmentos clareados foram esterilizados com raios gama, segundo o protocolo de 26 kGy (KiloGray) por um período de 10:36’ (Dez horas e trinta e seis minutos) antes de serem utilizados diretamente na fase *in situ*.

<u>Lase Peroxide Sensy II</u>	<u>Lase Peroxide Sensy</u>
Peróxido de hidrogênio a 25%	Peróxido de hidrogênio a 35%
pH 7 - 8	pH 6 - 7
Maior quantidade de água	Maior quantidade de glicerina
Maior difusibilidade – maior fluidez	Menor difusibilidade – menor fluidez

Quadro 4.2 – Características químicas diferenciais dos agentes clareadores

Seleção dos Voluntários

Foram selecionados 20 voluntários, adultos de ambos os sexos, através de triagem dentre os cadetes da ESFO – Escola de Formação de Oficiais da APMG -

Academia Policial Militar do Guatupê / Polícia Militar do Paraná, localizado na cidade de São José dos Pinhais - PR.

Todos os voluntários foram informados sobre a natureza do estudo, procedimentos envolvidos, desconfortos, riscos, benefícios e a forma de acompanhamento do tratamento. Foram esclarecidos que não estaria prevista qualquer forma de indenização ou ressarcimento de gastos uma vez que o tratamento não seria invasivo e não ofereceria riscos ao indivíduo. Os voluntários interessados em participar receberam um termo de consentimento que foi devidamente assinado, conforme anexo

B (*Termo de Consentimento Livre e Esclarecido*).

Primeiramente, cada voluntário respondeu a uma anamnese e passou por um exame clínico (sonda exploradora e espelho) a fim de serem analisados conforme os critérios de inclusão e exclusão estipulados a seguir:

Critérios de Inclusão e Exclusão dos participantes da pesquisa:

Todos os participantes voluntários da pesquisa apresentaram as seguintes características:

- Idade mínima de 18 anos e idade máxima de 25 anos;
- Não ter realizado tratamento clareador previamente ao experimento;
- Não ter histórico de hipersensibilidade dentinária prévia;
- Não apresentar nenhum tipo de patologia sistêmica;
- Não estar sob medicação antibiótica (nos últimos 6 meses);
- Apresentar todos os elementos dentais;

- Não apresentar doença periodontal;
- Não apresentar alterações de esmalte como a hipoplasia e amelogênese imperfeita;
- Não ter dentes anteriores tratados endodonticamente;
- Não fazer uso sistemático de tabaco e bebidas alcoólicas, durante todo o período do estudo;
- Participantes do sexo feminino não estavam grávidas;
- Não apresentar restaurações estéticas nos dentes anteriores superiores e inferiores;

Período “RUN IN”

Correspondeu ao período de padronização dos voluntários que antecedeu o experimento junto aos voluntários. Consistiu nas 2 semanas prévias ao início do presente estudo.

Em uma primeira sessão, cada voluntário recebeu uma escova dental macia (Oral B 35/ Gillete do Brasil Ltda., Manaus, AM, Brasil, 69075-900) e um dentifrício com flúor e sem bicarbonato de sódio (Colgate MFP/Kolynos do Brasil Ltda., Osasco, SP, Brasil, 06020-170), seguido de instruções de escovação de acordo com a técnica de Bass.

O objetivo do período *run-in* foi de padronizar todos os voluntários que se comprometeram a usar somente esses produtos fornecidos pelo pesquisador durante o período do experimento, evitando a utilização de bochechos e outros produtos diferentes de higiene bucal. Os voluntários também foram aconselhados com relação à dieta, já que o consumo abusivo de alimentos ácidos tais como as frutas cítricas, iogurte, tomate e bebidas como refrigerantes e vinhos podem, de

acordo com a literatura, favorecer o desgaste da superfície dental (HAYWOOD; ROBINSON, 1997; RODRIGUES et al., 2001; ROTSTEIN et al., 1996).

Fase Experimental - *in situ*

Conforme descrito anteriormente, 20 voluntários fizeram parte deste experimento randomizado. Nas superfícies vestibulares dos segundos pré-molares superiores e primeiros molares superiores de cada voluntário, foram fixados fragmentos de esmalte dental humano (Figura 4.3), aleatoriamente divididos em diferentes **grupos de tratamento** (peróxido de hidrogênio a 25% e 35%) e **tempos de avaliação**.

Cada grupo experimental foi composto por 10 amostras (n=10), de acordo com o organograma descritivo ao final deste capítulo (Figura 4.4).



Figura 4.3 - Imagem obtida da publicação de Basting et al., 2001, representativa da metodologia utilizada no presente estudo. Fragmentos de esmalte cimentados nos voluntários, na fase do experimento *in situ*

Preparo clínico dos voluntários

Os voluntários foram devidamente padronizados no período *run in*, 2 semanas antes do início do experimento. Previamente à fixação dos fragmentos de esmalte, foi realizada uma profilaxia com pedra-pomes e o registro de cor dos incisivos centrais e caninos superiores em um ponto determinado (terço médio), com o auxílio da escala de cor Vita (Vita Zahnfabrik, H.Rauter GmbH & Co. KG D-79713 Bad Säckingen, Germany).

Foi realizado isolamento dos dentes das arcadas superiores dos voluntários com o objetivo de evitar a contaminação por saliva durante o procedimento de cimentação dos fragmentos.

Quatro fragmentos de esmalte previamente clareados (1ª sessão) foram cimentados nas superfícies vestibulares dos primeiros molares e segundos pré-molares superiores (na ausência deste último, estes foram substituídos pelos primeiros pré-molares superiores) de cada voluntário.

As superfícies dentais onde foram cimentados os fragmentos foram condicionadas com ácido fosfórico a 35% (Condicionador Dental Gel, Dentsply, Latin America, Brasil) durante um tempo de 30 segundos, lavados por 30 segundos e devidamente secos. Os fragmentos foram cimentados com auxílio de um sistema adesivo (Scotchbond Multi-purpose, 3MESPE, St Paul, MN, USA) aplicados de acordo com as especificações do fabricante, e fotopolimerizados por 20 segundos. Em seguida foi utilizada a resina composta micro-híbrida Z250 (3MESPE, SP, Brasil) aplicada no lado oposto à face polida e preparada do fragmento. O fragmento foi, então, posicionado na superfície vestibular dos dentes selecionados, devidamente adaptado e fotoativado por 40 segundos. Os fragmentos restantes foram cimentados

na mesma maneira, até que, por fim, fossem instalados 4 fragmentos clareados por voluntário.

Após 48 horas, os voluntários tiveram 1 (um) de seus fragmentos removido aleatoriamente com auxílio de um alicate ortodôntico apropriado para remoção. Estes fragmentos (20), sendo que 10 fragmentos foram tratados com o gel a 25% e 10 com o gel a 35% (n=10), tiveram suas microdurezas registradas neste momento, ao qual denominamos de microdureza em tempo 2 (t_2).

Decorrido uma semana da cimentação dos fragmentos clareados, os voluntários retornaram para serem submetidos a uma sessão de clareamento em consultório, seguindo o protocolo proposto pelo fabricante. Previamente a esta sessão de clareamento, um segundo fragmento foi removido aleatoriamente. Este segundo fragmento teve sua microdureza mensurada neste momento, o qual denominou de microdureza ao tempo 3 (t_3 - pré-sessão de clareamento de consultório). Ainda nesta mesma sessão, e logo após a remoção do segundo fragmento, foi realizado o clareamento de consultório diretamente na boca dos voluntários, sobre as superfícies vestibulares dos seus dentes e simultaneamente sobre os 2 fragmentos restantes, ainda posicionados, sobre seus pré-molares e molares superiores.

Para esta sessão de clareamento, os lábios foram lubrificados e protegidos com vaselina para melhor afastamento, tal manobra foi feita com auxílio de um afastador mecânico. Foi confeccionada uma barreira gengival para a proteção dos tecidos moles (Lase Protect, DMC, São Carlos, SP, Brasil), e em seguida foi aplicado o gel clareador a base de peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações (Lase Peroxide Sensy, DMC, São Carlos, SP, Brasil). Este clareador foi utilizado de acordo com as normas do fabricante.

O clareamento com peróxido de hidrogênio fotoativado com fonte híbrida LED-laser (Whitening Lase Light, DMC, São Carlos, SP, Brasil) foi realizado conforme o seguinte protocolo:

- 1 - Aplicação do gel em toda arcada superior;
- 2 - Ativação do gel durante 7 ½ minutos, dispostos da seguinte maneira:
 - a) 2 minutos de ativação com a luz seguida de 30 segundos de repouso;
 - b) 2 minutos de ativação com a luz seguida de 30 segundos de repouso;
 - c) 2 minutos de ativação com a luz seguida de 30 segundos de repouso;
- 3 – Remoção do excesso do gel com sugador e gaze seca;
- 4 – Repetição do processo por mais duas vezes;
- 5 - Lavagem com água ao final do procedimento.

Imediatamente após o término do clareamento de consultório, um terceiro fragmento foi removido, e sobre este terceiro fragmento de esmalte foi mensurado um valor de microdureza, que correspondeu à microdureza relativa ao tempo 4 (t_4 - após sessão de clareamento *in situ*).

Passado mais uma semana, os voluntários retornaram para a remoção do último fragmento ainda cimentado, sendo, neste momento, registrado o último valor de microdureza, relativa ao tempo 5 (t_5 - pós 1 semana do final do tratamento clareador). Os diferentes tempos (t_1 , t_2 , t_3 , t_4 e t_5) do delineamento experimental, estão representados na figura 4.5.

Após o procedimento clareador foi realizada a remoção dos remanescentes de resina composta, eventualmente aderida às superfícies dentárias dos voluntários. Essa remoção foi feita com uso de brocas multilaminadas (K.G. Sorensen, Barueri, SP, Brasil, 06454-920), discos de lixa de acabamento e polimento (Sof-Lex/3M, St

Paul, MN, USA, 55144-1000) e discos de feltro para polimento das superfícies clareadas segundo as orientações do fabricante.

Ao final do experimento, os voluntários foram contemplados com o clareamento complementar na arcada inferior, pela técnica do clareamento caseiro, a fim de harmonizar a coloração final entre as arcadas, favorecendo o sorriso destes voluntários.

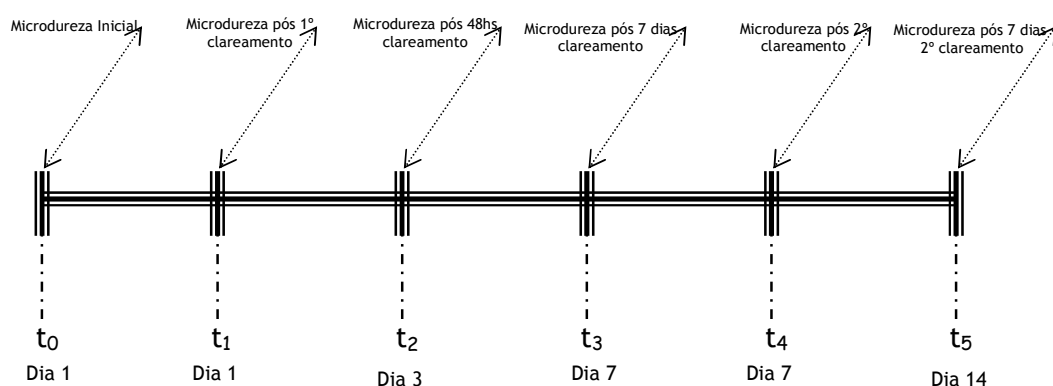


Figura 4.5 - Imagem ilustrativa dos diferentes tempos de avaliação propostos no estudo

t_0 → Microdureza inicial do fragmento de esmalte pós preparo/esterilização – *baseline*;

t_1 → Microdureza imediata após 1º clareamento – *in vitro*;

t_2 → Microdureza 48 horas após 1º clareamento, e já cimentado *in situ*;

t_3 → Microdureza 7 dias após 1º clareamento *in vitro*;

t_4 → Microdureza imediata após a 1ª sessão de clareamento de consultório (7º dia);

t_5 → Microdureza 14 dias após a sessão de clareamento *in vitro* (14º dia); .

Teste de Microdureza

Nos estudos em esmalte e dentina, o teste de microdureza mais utilizado é o teste Knoop (Meredith et al., 1996).

O valor da microdureza Knoop foi determinado para cada amostra com a utilização do aparelho microdurômetro (HMV – Shimadzu, Japan), com edentador tipo Knoop (Figuras 4.6 e 4.7), utilizando-se uma carga de 25 g por 5 segundos.

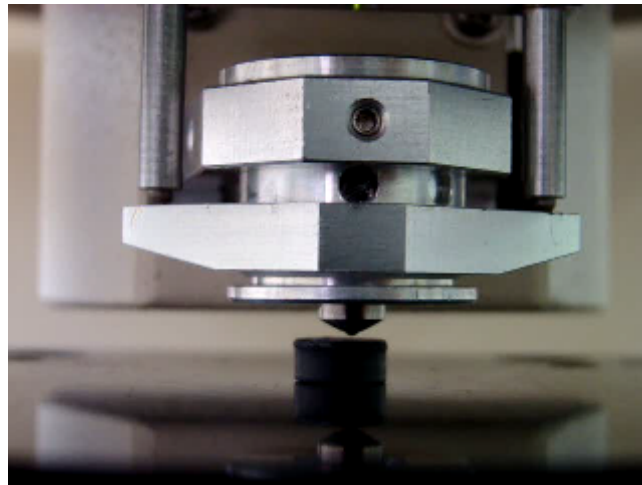


Figura 4.6 - Edentador Knoop

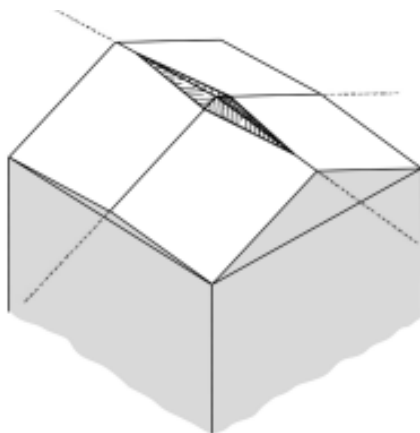


Figura 4.7 Edentador Knoop

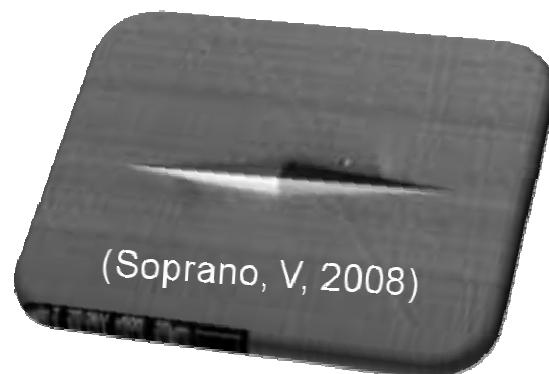


Figura 4.8 - Edentação Knoop

Valores de microdureza inicial dos fragmentos de esmalte foram registrados antes do início do experimento e foram considerados como o grupo controle.

Foram realizadas três edentações para cada fragmento de esmalte, com um espaçamento de 100 μm entre cada mensuração. É possível visualizar o esquema da edentação Knoop na figura 4.8.

Para a análise da microdureza inicial, do canto superior direito do fragmento, foram contados 1500 μm horizontalmente à esquerda e 1500 μm verticalmente, determinando-se o centro da amostra, onde foi realizado a primeira edentação; a partir desta, espaçou-se 100 μm para cima e para baixo, onde foram realizadas as 2 outras edentações adicionais necessárias à mensuração inicial do grupo controle.

Para a análise estatística da variável resposta, a microdureza Knoop, foi considerada a média das 3 edentações realizadas em todos os fragmentos de esmalte analisado.

Depois de realizado o clareamento *in vitro*, todos os 80 fragmentos foram novamente mensurados (t_1); para estas edentações imediatas (após a primeira sessão de clareamento), foi padronizada a utilização da metade direita da amostra. Como referência, foi localizado o centro do fragmento já utilizado para a mensuração da microdureza inicial do estudo (t_0) e, a partir deste ponto, distanciou-se 100 μm para a direita, onde foi realizada a primeira edentação para o tempo 1. Os critérios quanto ao espaçamento adotado entre as edentações foram as mesmas utilizadas para a análise inicial, ou seja, espaçou-se 100 μm para cima e para baixo, onde foram realizadas as 2 outras edentações adicionais.

No decorrer do experimento, todos os valores de microdureza nos diferentes tempos observados (t_2 t_3 t_4 t_5), foram analisados sob os mesmos critérios de edentação, no entanto, na metade esquerda das amostras.

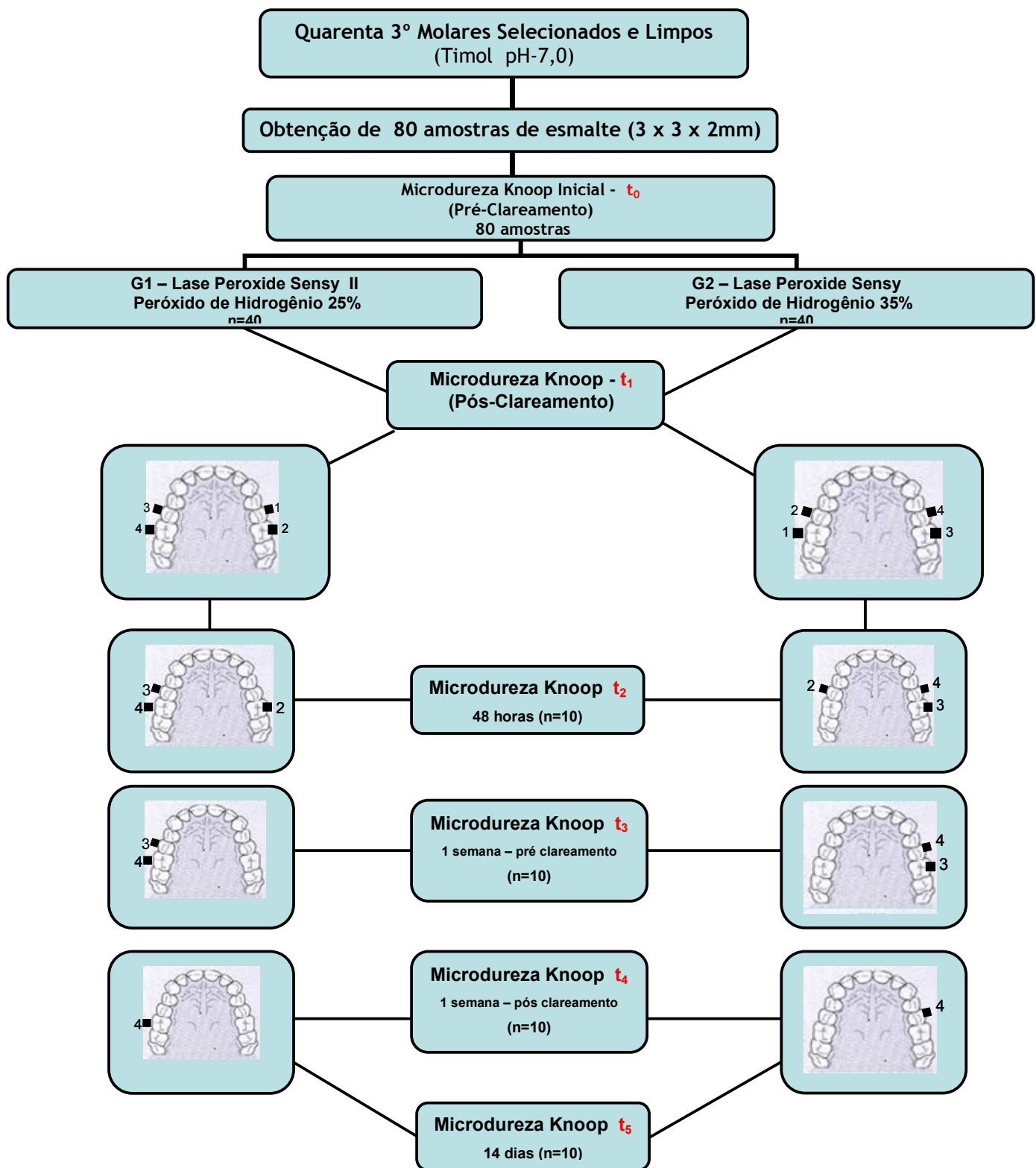


Figura 4.4 - Delineamento experimental

5 RESULTADOS

As médias obtidas a partir das 3 mensurações de microdureza em cada amostra de esmalte, nos diferentes tempos de avaliação, foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA), seguido do Teste de Comparações Múltiplas - Teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% (Apêndice A).

A análise de variância foi realizada considerando a interação entre os diferentes tempos analisados no estudo (t_0 , t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5), com os dois tipos de peróxidos de Hidrogênio (25% e 35%) (Apêndice 1). Verificou-se que além da influência do fator Tempo sobre a variável de resposta microdureza ($p=2e^{-16}$), houve influência estatisticamente significativa da interação Tempo*Peróxido de Hidrogênio ($p=0,04894$). Não houve diferença entre as concentrações (25% e 35%) de peróxido de hidrogênio utilizadas ($p=0,41432$).

Apesar do peróxido de hidrogênio a 25% e 35% não apresentarem diferença significativa na microdureza do esmalte clareado (Apêndice B), foi possível verificar, como demonstrado no gráfico 5.1, que os valores médios de microdureza das amostras avaliadas foram numericamente diferentes entre as duas concentrações do gel clareador. Na concentração a 25%, o valor médio da microdureza foi de 312,9 KHN, enquanto que para o peróxido de hidrogênio a 35% este valor aumentou sutilmente para 318,5 KHN, valores estes sem diferenças estatísticas significativas.

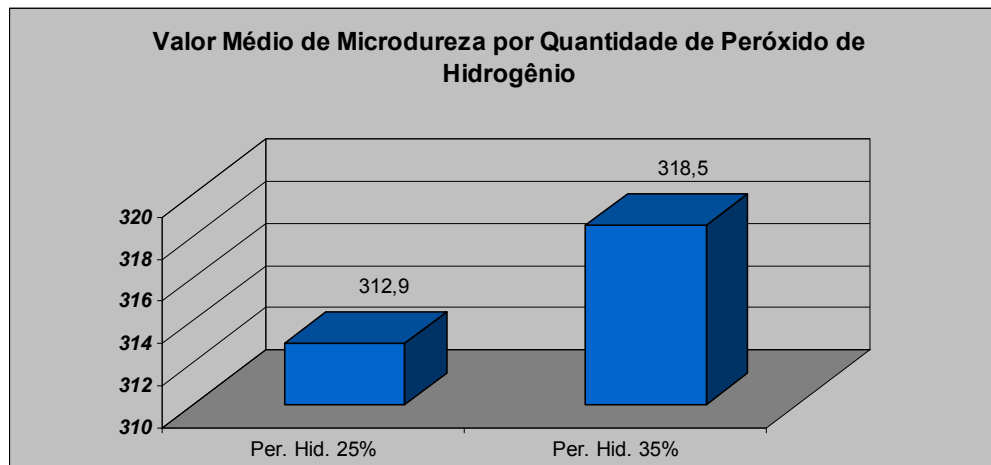


Gráfico 5.1 – Valores médios de microdureza do esmalte dental para os peróxidos de hidrogênio a 25% e 35%

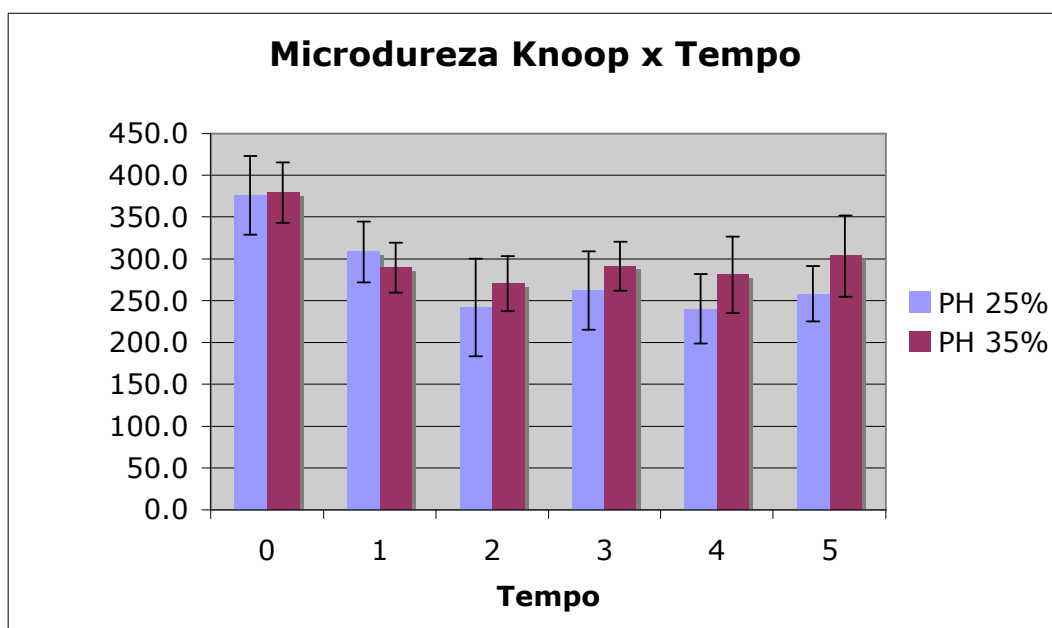


Gráfico 5.2 – Valores médios de microdureza Knoop do esmalte dental para os peróxidos de hidrogênio a 25% e 35% nos diferentes tempos de avaliação

De acordo com o gráfico 5.2 e a tabela 5.1, pode-se perceber uma diferença entre o valor médio da microdureza inicial (t_0) comparado aos

valores médios registrados nos demais tempos do estudo (tempos – t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5), para ambos os agentes clareadores.

Tabela 5.1 – Média dos valores de Microdureza Knoop (KHN) para o esmalte dental submetido ao tratamento com o peróxido de hidrogênio a 25 e 35% em cada tempo de avaliação

	TEMPO					
	T0 <i>Baseline</i>	T1 Imediato após 1° Clareamento	T2 48 h após 1° Clareamento	T3 7d após 1° Clareamento	T4 Imediato após 2° Clareamento	T5 7d após 2° Clareamento
PH 25%	375,8a	308,3b	242,0c	262,4bc	240,3c	258,4bc
DP	47,2	36,7	58,2	47,0	41,5	33,3
PH 35%	379,4a	289,6b	270,2b	291,5b	281,1b	303,5b
DP	36,0	29,8	32,7	29,3	45,8	48,6

PH: Peróxido de Hidrogênio; DP: Desvio Padrão

Letras indicam diferenças estatísticas entre colunas.

No tempo t_0 , correspondente a microdureza inicial do fragmento de esmalte hígido (*baseline*), a média dos valores encontrados foram estatisticamente superiores aos demais tempos de avaliação ($t_0 > t_1, t_2, t_3, t_4, t_5$), para ambos os peróxidos de hidrogênio (25% e 35%) ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que, para o tratamento com o gel de peróxido de hidrogênio a 25%, houve diferenças estatisticamente significativas entre o tempo 2 ($p= 0,02798$) e o tempo 4 ($p= 0,01824$), ambos comparados ao tempo 1. Todos os valores obtidos após o início do clareamento foram estatisticamente inferiores ao valor inicial (*baseline*).

Para o tratamento com o peróxido de hidrogênio a 35%, houve diferença estatisticamente significativa entre o tempo 0 (*baseline*) e o tempo 1 (imediate após 1° clareamento *in vitro*). Este, por sua vez, não apresentou diferenças comparadas aos demais tempos avaliados ($t_0 > t_1 = t_2 = t_3 = t_4 = t_5$).

Ainda que as médias finais de microdureza Knoop tenham sido estatisticamente inferiores aos valores do tempo t_0 (*baseline*), houve uma tendência, observada pelos valores numéricos obtidos no tempo t_5 (1 semana após a segunda sessão de clareamento *in situ*), a um aumento nos valores de microdureza.

6 DISCUSSÃO

A procura por uma aparência jovem e dentro dos padrões de beleza tem sido uma constante para a grande maioria das pessoas (FARAONI-ROMANO, 2009) e o sorriso é um componente de destaque neste contexto (MAIA et al., 2008). Um sorriso atraente é capaz de melhorar a imagem e a auto-estima, projetando um aspecto de saúde para as outras pessoas. Um reflexo deste fato é que cada vez mais pacientes procuram tratamento odontológico simplesmente por motivos estéticos (MAIA et al., 2008).

Compreender como o tratamento clareador repercute e influencia nas propriedades físicas do substrato dental, como a microdureza, certamente é fundamental para que o profissional selecione e indique a melhor técnica de clareamento frente às diversas situações clínicas. Esse entendimento se torna indispensável para o sucesso clínico quando a busca pela excelência estética é tão importante quanto a manutenção da saúde oral (FREITAS et al., 2006).

O clareamento dental é um procedimento considerado bastante conservador, executado desde o final do século XIX (DWINELLE, 1850). Substâncias químicas com ação oxidante e efeito branqueador, utilizadas em Odontologia e em outras especialidades, eram aplicadas sobre os dentes e os resultados eram relatados à comunidade odontológica. Essas investigações demonstraram o poder clareador do peróxido de hidrogênio, o qual se tornou amplamente utilizado para o clareamento de dentes vitalizados e não-vitalizados (HAYWOOD et al., 1992).

À parte os resultados estéticos, os efeitos do clareamento sobre o esmalte e a dentina têm sido bastante estudados. Como o clareamento é

tempo e dose-dependente, seu efeito sobre o dente é diretamente afetado pela concentração do agente clareador usado e pelo tempo de contato. Embora alguns autores tenham relatado que os agentes clareadores não causam alterações significativas de esmalte/dentina (MAIA et al., 2008), outros estudos defendem que ocorrem alterações morfológicas e de composição como consequência do clareamento (BASTING; RODRIGUES; SERRA, 2001, 2003; OLIVEIRA et al., 2005; PINTO et al., 2004; RODRIGUES et al., 2005).

O clareamento dental consiste na degradação de moléculas de maior peso molecular que refletem determinado comprimento de onda de luz emitida pelo dente, fazendo com que o dente pareça escurecido. Tal processo clareador ocorre graças à permeabilidade da estrutura dental (ATKINSON, 1947; BARTELSTONE, 1951; DIBDIN; POOLE, 1982; FISH, 1927; HOPPENBROUWERS; SCHOLBER; BORGGREVEN, 1986; KUHAR et al., 1997; MORENO; ZAHRADNIK, 1973; TEN CATE, 1998) e a capacidade de difusão dos agentes clareadores (JOINER; TRAKKER, 2004).

Neste estudo *in situ* foi avaliado a microdureza do esmalte dental humano submetido ao clareamento em consultório, com altas concentrações de peróxido de hidrogênio. O clareamento realizado revelou queda significativa nos valores de microdureza do esmalte, o qual não recuperou os valores iniciais (*baseline*) durante o período de realização do estudo. O tempo zero (t_0) apresentou valores mais altos de microdureza quando comparados a todos os outros tempos do estudo ($t_0 > t_1 t_2 t_3 t_4 t_5$).

O peróxido de hidrogênio caracteriza-se por possuir baixo peso molecular e capacidade de desnaturar proteínas. Tem a habilidade de permear o esmalte e a dentina, por sua alta capacidade de difusão, e pela porosidade e

a permeabilidade seletiva destes substratos. Assim, apresenta capacidade de remover manchas superficiais e também aquelas presentes mais profundamente nos tecidos dentais (BARATIERI, 2001). É um forte agente oxidante e, desta forma, preparações contendo este agente ativo são também efetivos clareadores. Quando utilizados em consultório, geralmente são encontrados em altas concentrações que variam de 25 a 38%, e devem ser utilizados com cautela pelo profissional e sempre com isolamento absoluto (ATTIN et al., 2009).

Neste trabalho o clareamento dental realizado com peróxido de hidrogênio em altas concentrações (25% e 35%) revelou queda da microdureza Knoop em todos os fragmentos de esmalte, resultado este que corrobora com diversos estudos descritos na literatura, como o de Lewinstein et al. (1994), no qual, através da avaliação da microdureza de dentes tratados também com peróxido de hidrogênio em altas concentrações (30%), observou-se alterações significativas na microdureza do esmalte após 15 minutos de tratamento.

Em estudo realizado em 1995, Lee et al. não constataram alterações significativas na microdureza do esmalte submetido a diferentes concentrações do peróxido de hidrogênio; no entanto, a avaliação em microscopia eletrônica de varredura, revelou a presença de porosidades e trincas, com possível remoção da matriz orgânica e mineral. Foram observadas muitas áreas hipomineralizadas, sendo estas mais evidentes após o tratamento com peróxido de hidrogênio a 50%.

Diversos experimentos *in vitro* utilizando peróxidos de carbamida em concentrações de uso caseiro (10% a 16%), por tempos específicos, verificaram que em todos os grupos tratados com estes agentes clareadores

houve alterações na microdureza, rugosidade e morfologia superficial estatisticamente significativa, quando comparados aos grupos controle de cada experimento (CIMILLI; PAMEIJER, 2001; OLIVEIRA et al., 2005; PINTO et al., 2004; SMIDT et al., 1998). Isso demonstra o potencial desmineralizante do clareador frente ao esmalte clareado e corrobora com o encontrado no presente estudo.

Attin et al., em 1997, quando avaliaram o efeito do peróxido de carbamida a 10% sobre a microdureza do esmalte dental bovino associado a diferentes aplicações de flúor e imersão em solução remineralizadora, constataram uma diminuição da microdureza do esmalte dental clareado; entretanto, o grupo não exposto aos fluoretos demonstrou a maior perda mineral. Dessa forma, a queda de microdureza superficial do esmalte foi reduzida pela aplicação de fluoretos, o que permitiu a remineralização do esmalte clareado.

Alguns estudos mencionam que a microdureza do esmalte frente à ação do peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida, ambos de uso caseiro, não altera os valores de microdureza superficial do esmalte. Os autores concluem que estes peróxidos podem causar mudanças locais, químicas e microestruturais no esmalte dental, no entanto, clinicamente insignificante, diferentemente do comportamento obtido para os peróxidos de alta concentração utilizados em consultório (FERREIRA et al., 2006; MURCHINSON; CHARLTON; MOORE, 1992; POTOČNIK; KOSEC; GASPERSIC, 2000).

Ainda em concordância com este experimento, autores que avaliaram *in situ* as alterações na microdureza de esmalte e utilizaram o mesmo agente a

base de peróxido de carbamida, também obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo (BASTING; RODRIGUES; SERRA, 2001, 2003; RODRIGUES et al., 2005). Demonstraram haver uma queda estatisticamente significativa na microdureza do esmalte dental logo após o tratamento clareador para todos os grupos avaliados, incluindo grupos tratados com agentes contendo carbopol e glicerina. Portanto, pode-se concluir que os agentes clareadores podem causar a desmineralização do esmalte. Espera-se ainda que, clinicamente, o esmalte alcance a dureza inicial pela ação remineralizadora da saliva após um determinado tempo.

No presente estudo, apesar dos aspectos positivos de uma pesquisa *in situ*, no tempo de avaliação de 7 dias após a segunda sessão de clareamento em consultório (t_5) não foi possível verificar o aumento da microdureza e possível ação remineralizadora da saliva; portanto a microdureza final (t_5) permaneceu menor que a microdureza inicial (t_0). Porém, os resultados sugerem uma tendência à recuperação desses valores, já que os valores numéricos encontrados foram superiores aos 7 dias pós-clareamento quando comparados aos valores obtidos imediatamente após a sessão de clareamento. Neste caso, um período de avaliação maior poderia revelar diferentes dados em relação ao potencial da saliva em reverter os efeitos provocados pela ação do gel clareador utilizado.

Evidências sugerem que fatores protetores – principalmente os componentes salivares – previnem perda mineral significativa e/ou restabelecem o conteúdo mineral durante e após o tratamento clareador (BASTING; RODRIGUES; SERRA, 2001, 2003; RODRIGUES et al., 2005). Para favorecer a remineralização e minimizar a desmineralização durante o

clareamento, a escolha do agente clareador parece ser de extrema importância. Entre as características esperadas de agentes clareadores, pode-se incluir o pH neutro e a presença de flúor. Além disso, altas concentrações de peróxido devem ser evitadas (FREITAS et al., 2006).

Foi observado, no presente experimento, queda da microdureza realizado em ambas as sessões de clareamento. No entanto, na primeira sessão do clareamento, realizado *in vitro*, foi possível observar uma redução maior nos valores de microdureza, quando comparada à redução da microdureza após a segunda sessão do clareamento, realizado *in situ*. Esta informação corrobora com o estudo *in vitro* realizado por Rodrigues et al., em 2001, que avaliaram o efeito do peróxido de carbamida a 10% sobre a microdureza do esmalte dental. Os resultados sugeriram que o pH dos agentes clareadores poderia influenciar na perda mineral do substrato; entretanto, pode-se esperar que *in vivo* essa perda mineral não ocorra, ou mesmo seja menor em função da presença da saliva (BASTING; RODRIGUES; SERRA, 2001, 2003).

A saliva exerce um papel importante na manutenção e na recuperação do conteúdo mineral do dente não somente durante o tratamento clareador, mas também sempre que o pH intrabucal cai abaixo do nível crítico. A saliva neutraliza substâncias ácidas na boca e favorece a remineralização do esmalte e da dentina fornecendo íons minerais que substituem aqueles dissolvidos durante a desmineralização (FREITAS et al., 2006).

A capacidade de tamponamento da saliva varia entre um pH de 5,3 e 7,8, dependendo do fluxo salivar. O sistema tampão mais importante da saliva é o bicarbonato, que atua aumentando o pH da cavidade bucal, neutralizando

os ácidos e aumentando a decomposição do peróxido de hidrogênio. A capacidade tampão da saliva também está associada à presença de uréia. A degradação da uréia em amônia e dióxido de carbono é um neutralizador relevante de ácido na saliva, pois a amônia eleva o pH e poderia rapidamente reagir com radicais livres de hidrogênio (LEONARD et al., 1994). Esse mecanismo é especialmente relevante para o clareamento caseiro, pois a uréia é um subproduto da degradação do peróxido de carbamida (FREITAS; et al., 2006).

Enzimas presentes na saliva, tais como a peroxidase e a catalase, constituem o meio primário pelo qual o peróxido de hidrogênio é regulado na cavidade bucal. As peroxidases, tanto extracelulares como intracelulares, são responsáveis pelo quebra e manutenção do peróxido de hidrogênio, convertendo-o em oxigênio e água. Portanto, outra função da saliva durante o clareamento é ajudar a eliminar o peróxido de hidrogênio que poderia ficar disponível na cavidade bucal (FREITAS et al., 2006).

Ainda em relação ao papel remineralizante da saliva, em 2004, Justino, Tames e Demarco, analisando perda mineral de fragmentos de esmalte dental humano, em ambiente *in vitro* e *in situ*, concluíram que nas duas situações experimentais houve perda do cálcio. No entanto, *in situ*, a perda foi menor, provavelmente pelo poder remineralizador da saliva.

No presente estudo, não foi possível observar diferenças no comportamento entre as duas concentrações do gel (25% e 35%). De maneira semelhante, Basting, Rodrigues e Serra, em 2003, avaliaram o efeito de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida, também variando suas concentrações e constataram que a concentração não influenciou a

microdureza do esmalte, e, portanto, quando necessário, pode-se optar pelo uso de agentes em maior concentração.

Frente ao exposto, é possível concluir que a diminuição da concentração do peróxido de hidrogênio (35% para 25%) não apresentou diferença significativa entre os valores de microdureza quando comparadas ao gel de maior concentração. Redução esta que foi feita por parte do fabricante com o objetivo de tornar o agente clareador menos agressivo, e possivelmente com isso, reduzir os possíveis efeitos deletérios sobre o esmalte dental; no entanto, a diferença entre as duas concentrações não foi observada neste estudo.

O pH de um agente clareador é um fator muito significativo quando se examina o equilíbrio dental mineral durante o clareamento. Como a validade da maioria dos produtos químicos se estende com um pH baixo, alguns agentes clareadores apresentam um pH variando de 4,3 até 6,2. Como o pH crítico para desmineralização do esmalte e da dentina é 5,5 e de 6,2 - 6,7, respectivamente, um agente clareador com um pH baixo tem o potencial de desmineralizar o esmalte e/ou a dentina. Mostrou-se que produtos clareadores com pH mais alto aumentam a velocidade de dissociação do radical peróxido e, conseqüentemente, aumentam o clareamento do dente (FREITAS et al., 2006).

Atualmente, muitos agentes clareadores com pH neutro podem ser encontrados no mercado. Inclusive, o gel Lase Peroxide a 35%, produto utilizado no presente estudo, possui um pH entre 6-7; já o Lase Peroxide II a 25% possui um pH em torno de 7-8, conforme informações fornecidas pelo próprio fabricante. Os produtos com alto pH devem ser preferidos, pois se espera que eles previnam mais eficazmente a desmineralização do dente (LEONARD et al., 1994), ainda que se tornem mais instáveis. A ionização do

peróxido de hidrogênio pela saliva e fluidos bucais produz quantidades mais altas de hidrogênio, melhorando o clareamento. A liberação de hidrogênio poderia diminuir o pH, aumentando o risco de desmineralização. Contudo, a uréia, um subproduto do peróxido de carbamida e também liberada por glândulas salivares estimuladas, pode elevar o pH durante o clareamento.

Com relação ao pH dos agentes clareadores, Frysh et al., em 1995, avaliaram com o uso de um colorímetro, a efetividade de um agente clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35% em seu pH original (4,4) e tamponado (pH 9,0), aplicado sobre dentes extraídos. Foi constatado que o peróxido de hidrogênio alcalino é 2,7 vezes mais efetivo que o peróxido de hidrogênio ácido. Acrescentaram, ainda, que o agente alcalino possui a vantagem de causar menor desmineralização na superfície dental que outros agentes ácidos. Diante do exposto, é possível informar que ambos os agentes clareadores utilizados neste experimento, com relação ao seu pH (6-8), são produtos que encontram-se em conformidade com o que a literatura atual sugere para aplicação clínica.

O aumento do pH do peróxido de hidrogênio a 25%, conseguido pela adição de mais neutralizante na fase 2 (espessante) do produto, modificou o comportamento da coloração do gel clareador. Adicionar mais neutralizante tem por objetivo tornar o espessante do clareador ainda mais básico (pH=11), para que quando misturado a fase 1, mais ácida do peróxido, gere um produto resultante de maior pH. Este gel, mais básico que o clareador a 35%, permanece clinicamente com um tempo de coloração vermelho maior que o gel a 35%. Tal aumento da permanência do tempo do corante deve-se à mudança do pH do produto. Estudos comprovando que agentes químicos idênticos, no

entanto em pH diferentes, apresentam padrões de cor também diferentes, conforme estudo realizado no laboratório de Química da Universidade Federal de São Carlos, 1995. Um maior tempo clínico do corante vermelho do gel parece favorecer ainda mais o procedimento clareador deste gel, uma vez que a fonte de luz híbrida LED-laser, preconizado para a técnica utilizada, tem alta afinidade por pigmento vermelho.

Em relação aos diferentes tempos de avaliação do estudo ($t_0 - t_5$), foi possível concluir que para o peróxido de hidrogênio a 35%, houve diferença significativa entre o tempo inicial zero (esmalte hígido - *baseline*), para o tempo 1 (imediate após 1° clareamento *in vitro*) e para o restante de todos os outros tempos avaliados. No entanto, para os tempos 2, 3, 4 e 5, não houve diferença estatisticamente significativa entre eles ($t_0 > t_1 = t_2 = t_3 = t_4 = t_5$). Isto significa dizer que os valores de microdureza do esmalte hígido foram significativamente maiores que os valores do esmalte imediatamente clareado. No entanto, estes fragmentos já clareados *in vitro*, não apresentaram diferenças significativas em suas microdurezas, após serem cimentados na cavidade bucal. O que permite, mais uma vez, afirmar que o ambiente bucal, durante os 14 dias de experimento não foi capaz de remineralizar o esmalte clareado.

Já para o grupo tratado com o peróxido de hidrogênio a 25%, os valores de microdureza do esmalte hígido (*baseline*) foram significativamente maiores que os valores do esmalte imediatamente clareado, fato já observado para o grupo clareado com o gel a 35%. Estes fragmentos já clareados *in vitro*, após serem cimentados na cavidade bucal, tiveram seus valores de microdureza ainda mais reduzidos após 48 horas em contato com a saliva ($t_1 > t_2$). Este comportamento pode ser explicado, hipoteticamente, por uma continuidade do

efeito do gel, ou, por um efeito residual do potencial clareador. A análise da composição química do agente clareador a base de peróxido de hidrogênio a 25%, com base em informações fornecidas pelo próprio fabricante, mostra que há em sua formulação uma quantidade maior de água no espessante e como veículo deste gel, ao invés da glicerina como é presente no peróxido a 35%. Esta maior quantidade de água como veículo torna este material mais fluido, e, portanto, de maior capacidade de difusão pelo substrato dental. Possivelmente este gel de maior difusão, aprisionado dentro dos prismas do esmalte semipermeável, poderia ter sua ação clareadora continuada, mesmo em ambiente bucal, condição verificada após 48 horas.

Ainda para o grupo tratado com o peróxido de hidrogênio a 25%, foi possível observar que o tempo 1 (imediate após 1° clareamento *in vitro*) apresentou diferença em relação ao tempo 4 (imediate após 2° clareamento *in situ*) - ($t_1 > t_4$). Este fato pode ser justificado perante uma microdureza já reduzida frente ao primeiro clareamento *in vitro* (t_1), que não foi recuperada na cavidade bucal pela ação da saliva e, portanto, teve um decréscimo ainda maior frente ao segundo clareamento, mesmos em condições experimentais *in situ* (t_4).

Com relação às diferenças nas composições químicas existentes entre o peróxido de hidrogênio a 25% e 35% foi possível observar, clinicamente, que o gel a 35%, já existente no mercado, caracteriza-se por ser mais agressivo, por sua alta concentração. Contém em sua formulação uma maior quantidade de glicerina como veículo, que por ser anidra, atua como um produto desidratante (RIEHL, 1998) e pode reduzir o transporte de fluídos dentro da estrutura dental, o que é extremamente relevante para os processos de des/remineralização. A

desidratação durante o clareamento também pode resultar em sensibilidade dental (FREITAS et al., 2006).

Com o objetivo de reduzir a sensibilidade operatória presente nos clareamentos dentais, o fabricante alterou a formulação química, reduzindo a concentração do peróxido de hidrogênio para 25%, o que certamente deixaria o agente clareador menos agressivo. Pensando nos efeitos sobre a estrutura dental, foi adicionada uma maior quantidade de água no espessante, e também como veículo, reduzindo com isso a quantidade de glicerina. Esta alteração reduziu os eventos de desidratação e/ou sensibilidade dentinária, presente nos clareamentos. No entanto, a adição de água na formulação química do gel tornou este material mais fluido clinicamente, o que facilitou a sua aplicação sobre as estruturas dentais, por possuir um maior escoamento, maior molhamento sobre as superfícies, e, conseqüentemente, uma maior capacidade de difusão pelos substratos semipermeáveis dos dentes.

Embora o pH do agente clareador seja certamente relevante quando se considera o equilíbrio mineral durante o clareamento, outros ingredientes, como o carbopol, também podem ser responsáveis por alterações no conteúdo mineral. O pH não deveria ser considerado uma variável isolada, mas deveria se preferir um pH neutro.

Em relação ao espessante, em 2007, Rodrigues, Oliveira e Amaral, avaliaram *in vitro* o efeito do clareamento caseiro sobre a microdureza do esmalte após o uso de agentes clareadores com e sem carbopol como espessante. Diferentes espessantes não causaram alterações na microdureza do esmalte.

McCracken e Haywood, em 1995, avaliaram a microdureza do esmalte humano após a aplicação de dois tipos de peróxido de carbamida a 10%, sendo que um deles com pH 5,3 e carbopol e, o outro, pH 7,2, sem carbopol. Somente foi encontrada alteração na microdureza a uma profundidade de 25 μm com a aplicação do peróxido de carbamida com o agente espessante. Entretanto, não se pode afirmar se o responsável pela perda de mineral foi o pH ácido ou o carbopol. O agente clareador sem carbopol não demonstrou diferenças na microdureza subsuperficial. Clinicamente é insignificante frente ao condicionamento ácido ou a uma profilaxia dental que removem cerca de 5 μm a 50 μm do esmalte.

Dentre os agentes clareadores utilizados neste experimento, e de acordo com informações fornecidas pelos fabricantes, ambos apresentam como espessante o carbopol em sua formulação química.

Estudos utilizando clareadores caseiros de baixa concentração como o peróxido de carbamida a 10% e o peróxido de hidrogênio a 7,5%, por um período ininterrupto de 21 dias, observou-se que uma possível desmineralização causada pelos agentes clareadores pode ser clinicamente revertida pela ação remineralizadora dos dentífricos e da saliva do paciente, e concluiu-se ainda que, os valores de microdureza de esmalte não apresentaram alterações significativas em nenhum dos grupos do estudo (DE OLIVEIRA et al., 2003; MAIA et al., 2008; SHANNON et al., 1993).

O fato da microdureza não ter sido revertida, no presente estudo, ou da não completa remineralização do esmalte clareado, mesmo em ambiente bucal, muito possivelmente se deva ao produto avaliado ser um agente clareador de alta concentração (peróxido de hidrogênio a 25 e 35%),

diferentemente dos estudos mencionados acima, que relatam experimentos *in situ* que envolvem clareadores caseiro e, portanto, de menor concentração, além de um período maior de avaliação clínica.

Outro fator ao qual é possível atribuir tal comportamento é o tempo do delineamento experimental. Trabalhos da literatura mencionam que alterações superficiais de perda mineral em esmalte clareado mantiveram-se presente mesmo após 90 dias (BITTER, 1998) ou 12 semanas (JOSEY, 1996) depois de finalizado o clareamento, e em ambiente salivar. Conclui-se que alterações no esmalte provenientes do clareamento dental podem perdurar por um longo período de tempo.

É perceptível uma tendência ao aumento dos valores de microdureza depois de passado um determinado tempo clínico. Para isso, outros trabalhos *in situ*, seguindo um delineamento experimental semelhante ao que existe na literatura, teriam que ser realizados, idealmente com um tempo clínico maior para possibilitar uma avaliação, com maior precisão, das diversas alterações superficiais dos substratos clareados.

7 CONCLUSÕES

a) O clareamento de consultório com peróxido de hidrogênio a 25% e 35% reduz a microdureza do esmalte dental humano, independente da concentração do agente clareador utilizado.

b) Não houve diferença nos valores de microdureza para o peróxido de hidrogênio a 25% e a 35%.

c) A microdureza do esmalte clareado em consultório com peróxido de hidrogênio a 25% e a 35% não foi recuperada, mesmo após 14 dias em contato com a saliva.

REFERÊNCIAS¹

Atkinson HF. An investigation into the permeability of human enamel using osmotic methods. *Br Dent J* 1947;83(10):205-14.

Attin T, Kielbassa AM, Schawanenber M, Hellwig E. The effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil* 1997;24(4):282-6.

Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: A review. *Dent Mater* 2009;25(2):143-57.

Baratieri LN. *Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades*. São Paulo: Santos; 2001.

Baratieri LN, Monteiro Junior S, Andrada MAC de, Vieira LC. *Clareamento dental*. São Paulo: Santos; 1995.

Barbosa SV, Safavi KE, Spångberg SW. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. *Int Endod J* 1994;27(6):309-12.

Barghi N. Making a clinical decision for vital tooth bleaching: at home or in office? *Compend Contin Educ Dent* 1998;19(8):831-8.

Bartelstone HJ. Radioiodine penetration through intact enamel with uptake by bloodstream and thyroid gland. *J Dent Res* 1951;30(5):728-33.

Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin *in situ*. *Oper Dent* 2001;26(6):1-9.

Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J Am Dent Assoc* 2003;134(10):1335-42.

Ben-Amar A, Liberman R, Gorfil C, Bernstein Y. Effect of mouthguard bleaching on enamel surface. *Am J Dent* 1995;8(1):29-32.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Bergman G. Microscopic demonstration of liquid flow through human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1963;8:233-4.

Bitter NC. A scanning electron microscope study of the longterm effect of bleaching agents on the enamel surface "in vivo". *Gen Dent* 1998;46(1):84-8.

Bogue EA. Bleaching Teeth. *Dent Cosmos* 1872;14:1-3.

Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser - a systematic review. *Dent Mater* 2007;23(5):586-96.

Carvalho EMOF. Análise das alterações cromáticas após escurecimento e clareamento dental tendo como variável a fonte termocatalítica [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2000.

Cervantes A, Bolanho A, Valera MC, Araújo MAM. Estudo da microdureza do esmalte bovino submetido ao tratamento clareador ativado por diferentes fontes de luz. *Cienc Odontol Bras* 2006;9(3):78-86.

Cimilli H, Pameijer CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *Am J Dent* 2001;14(2):63-6.

Clinical Research Associates. New Generation in-office vital tooth bleaching. Part 2. *CRA Newsletter* 2003;27:1-2.

Conceição EN. *Dentística – saúde e estética*. Porto Alegre: Artes Médicas Sul; 2000.

Cubbon T, Ore D. Hard tissue and home tooth whiteners. *CDS Rev* 1991;84(5):32-5.

Darling AI, Mortimer KV, Poole DF, Ollis WD. Molecular sieve behaviour of normal and carious human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1961;5:251-73.

De Oliveira RO, Basting RT, Rodrigues JA, Rodrigues Jr AL, Serra MC. Effects of a carbamide peroxide agent and desensitizing dentifrices on enamel microhardness. *Am J Dent* 2003;16(2):42-6.

Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos. Papel indicador de pH e estudo da estabilidade da solução de repolho roxo. Química nova na escola. Equilíbrio ácido base. 1995;1:32-3.

Dibdin GH, Poole DFG. Surface area and pore size analysis for human enamel and dentine by water vapour sorption. Arch Oral Biol 1982;27(3):235-41.

Dwinelle WW. Ninth Annual Meeting of American Society of Dental Surgeons. Article X. Amer J Dent Sci 1850;1:57-61.

Faraoni-Romano JJ, Turssi CP, Serra MC. Effect of a 10% carbamide peroxide on wear resistance of enamel and dentine: In situ study. J Dent 2009.

Fat JC. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro [Thesis]. Michigan: University of Michigan; 1991.

Featherstone JDB, Duncan JF, Cutress TW. The mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in vitro caries simulation in human tooth enamel. Arch Oral Biol 1979;24(2):101-12.

Fejerskov O, Josephsen K, Nyvad B. Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel. Caries Res 1984;18(4):302-14.

Ferreira IA, Lopes GC, Vieira LCC, Araújo E. Effect of hydrogen-peroxyde-based home bleaching agents on enamel hardness. Braz J Oral Sci 2006;5(18):1090-3.

Fish EW. The circulation of lymph in dentin and enamel. J Am Dent Assoc 1927;14(5):804-17.

Flaitz CM, Hicks MJ. Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: an SEM and polarized light microscopy in vitro study. ASDC J Dent Child 1996;63(4):249-56.

Fortuna CR. Clareamento dos dentes vitais com gel de peróxido de carbamida a 10% com carbopol e a possível alteração na força de adesão por cisalhamento de resinas compostas fotopolimerizáveis aplicadas ao esmalte

clareado [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1996.

Freitas, PM, Teixeira ECN, Hara AT, Ritter AV, Serra MC. Efeito do clareamento caseiro sobre o equilíbrio mineral dos tecidos dentais: Uma revisão da literatura. Clin Int J Braz Dent 2006;2(2):136-43.

Frysh H, Bowles WH, Baker F, Rivere-Hidalgo F, Guillen G. Effect of pH on hydrogen peroxide bleaching agents. J Esthet Dent 1995;7(3):130-3.

Goldstein RE, Garber DA. Complete dental bleaching. Chicago: Quintessence Books; 1995.

Gultz J, Kaim J, Scherer W, Gupta H. Two in-office bleaching systems: A scanning electron microscope study. Compend Contin Educ Dent 1999;20(10):965-9.

Gwinnett AJ. Normal enamel. II. Qualitative polarized light study. J Dent Res 1967;45(2):261-5.

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. Oper Dent 1992;(Suppl 5):10-7.

Harlan AW. Proceeding of the American Dental Association –Twenty Third Annual Session. Dent Cosmos 1884;26:97-8.

Harlan, AW. The dental pulp, its destruction, and methods of treatment of teeth discolored by its retention in the pulp chamber or canals. Dent Cosmos 1891;33:137-41.

Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of nightguard vital bleaching technique. Quintessence Int 1992;23(7):471-88.

Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. Quintessence Int 1989;20(3):173-6.

Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: how safe is it? Quintessence Int 1991;22(7):515-23.

Haywood VB, Robinson FG. Vital tooth bleaching with nightguard vital bleaching. *Curr Opin Cosmet Dent* 1997;4:45-52.

Hirata R. Clareamento de dentes vitalizados: situação clínica atual. *J Bras Odontol Clin* 1997;1:13-21.

Ho S, Goerig AC. An "in vitro" comparison of different bleaching agents in the discolored tooth. *J Endod* 1989;15(3):106-11.

Hoppenbrouwers PMM, Scholber HPF, Borggreven MPM. Measurement of the permeability of dental enamel and its variation with depth using electrochemical method. *J Dent Res* 1986;65(2):154-7.

Joiner A, Trakker G. In vitro evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product. *J Dent* 2004;32(Suppl 1):19-25.

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;23(4):244-50.

Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

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.

Kingsbury CA. Discoloration of dentine. *Dent Cosmos* 1861;3:60.

Kirk EC. The chemical bleaching of teeth. *Dent Cosmos* 1889;31:273.

Kirk EC. Hints, queries, and comments: sodium peroxide. *Dent Cosmos* 1893;35:1265-7.

Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent* 1994;16(1):29-35.

Kuhar M, Cevc P, Schara M, Funduk N. Enhanced permeability of acid-etched or ground dental enamel. *J Prosth Dent* 1997;77(6):578-82.

Lee CQ, Cobb CM, Zargartalebi F, Hu N. Effect of bleaching on microhardness, morphology, and color of enamel. *Gen Dent* 1995;43(2):158-62.

Leonard RH Jr. Efficacy, longevity, side effects, and patient perceptions on nightguard vital bleaching. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19(8):766-70.

Leonard RH Jr, Austin SM, Haywood VB, Bentley CD. Change in pH of plaque and 10% carbamide peroxide solution during nightguard vital bleaching treatment. *Quintessence Int* 1994;25(12):819-23.

Leonard RH Jr, Bentley CD, Haywood VB. Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. *Quintessence Int* 1994;25(8):547-50.

Leonard RH Jr, Sharma A, Haywood VB. Use of different concentrations of carbamide peroxide for bleaching teeth: an in vitro study. *Quintessence Int* 1998;29(8):503-7.

Lewinstein I, Hirschfeld Z, Stabholz A, Rotstein I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the dentin. *J Endod* 1994;20(2):61-3.

Lynch E, Samarawickrama DY, Claxson AW, Hawkes JE, Atherton M, Naughton DP, et al. Safety aspects concerning the therapeutic and cosmetic applications of hydrogen peroxide (H₂O₂) – containing gels, whiteners, oral rinses and dentifrices. *J Ir Dent Assoc* 1994;40(3):78-82.

Lynch E, Sheerin A, Samarawickrama DY, Atherton MA, Claxson AW, Hawkes J, et al. Molecular mechanisms of the bleaching actions associated with commercially-available whitening oral health care products. *J Ir Dent Assoc* 1995;41(4):94-102.

Maia E, Baratieri LN, Andrada MAC, Monteiro Jr S, Vieira LCC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: An in situ study. *J Dent* 2008;36:2-7.

McCracken M, Haywood VB. Effects of 10% carbamide peroxide on subsurface hardness on enamel. *Quintessence Int* 1995;26(1):21-4.

McCracken MS, Haywood VB. Demineralisation effects of 10% carbamide peroxide. *J Dent* 1996;24(6):395-8.

Maroli S, Khera SC, Krell KV. Regional variation in permeability of young dentin. *Oper Dent* 1992;17(3):93-100.

Mendonça CCL, Paulillo LAMS. Clareamento em dentes vitais: utilização do peróxido de carbamida. *Rev Bras Odontol* 1998;55(4):216-21.

Meredith N, Sherriff M, Setchell DJ, Swanson SA. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. *Arch Oral Biol* 1996; 41(6):539-545.

Mjör IA, Fejerskov O. *Embriologia e histologia oral humana*. São Paulo: Panamericana; 1990.

Moreno EC, Zahradnik RT. The pore structure of human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1973;18(8):1063-8.

Murchinson DF, Charlton DG, Moore BK. Carbamide peroxide bleaching: effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent* 1992;15(5):181-5.

Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. *Braz Dent J* 2005;16(2):103-6.

Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ. Electron microscopy of surface enamel of human unerupted and erupted teeth. *Arch Oral Biol* 1980;25(11-12):715-25.

Papathanasiou A, Bardwell D, Kugel G. A clinical study evaluation a new chairside and takehome whitening system. *Compend Contin Educ Dent* 2001;22(4):289-98.

Pécora JD, Cruzfilho AM, Sousaneto MD, Silva RG. *In vitro* action of various bleaching agents on the microhardness of human dentin. *Braz Dent J* 1994;5(2):129-34.

Perez CR, Portela JB, Barceleiro MD. Avaliação das alterações cromáticas após dois meses em dentes clareados com e sem fotoativação. *Rev Pesq Odontol Bras* 2006;20:305.

Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res* 2004;18(4):306-11.

Poole DF, Tailby PW, Berry DC. The movement of water and other molecules through human enamel. *Arch Oral Biol* 1963;38:771-2.

Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% Carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod* 2000;26(4):203-6.

Riehl H. Clareamento dental. Londrina: CIAPEC; 2001. CD-ROM. Disponível em: http://www.ciapec.com.br/internas/curso/curso_mod.asp?Curso=11&T ipo_Curso=2&modulo=1. URL:

Riehl H. Seção Discordando. *Rev Ass Paul Cirurg Dent* 1998;52(3):195.

Rodrigues JA. Efeito do clareamento de consultório associado ao clareamento caseiro sobre a microdureza do esmalte dental humano [Tese de Doutorado]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas; 2003.

Rodrigues JA, Basting RT, Serra MC, Rodrigues Jr AL. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. *Am J Dent* 2001;14(2):67-71.

Rodrigues JA, Marchi GM, Ambrosano GMB, Heymann HO, Pimenta LA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dent Mat* 2005;21:1059-67.

Rodrigues JA, Oliveira GPF, Amaral CM. Effect of thickener agents on dental enamel microhardness submitted to at-home bleaching. *Braz Oral Res* 2007;21(2):170-5.

Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996;22(1):23-6.

Rotstein I, Friedman S. pH variation among materials used for intracoronal bleaching. *J Endod* 1991;17(8):376-9.

Rotstein I, Lehr Z, Gedalia I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. *J Endod* 1992;18(6):290-3.

Rotstein I, Torek Y, Lewinstein I. Effect of bleaching time and temperature on the radicular penetration of hydrogen peroxide. *Endod Dent Traumatol* 1991;7(5):196-8.

Santos M, Siqueira EL, Di Girolamo Neto JA. Clareamento dental – limitações e como superá-las: apresentação de um caso clínico. *Rev Odontol UNICID* 1996;8(1):37-42.

Saquy PC, Sousa Neto MD, Canepa R, Pécora JD. Estudo *in vitro* da permeabilidade dentinária após aplicação de agentes clareadores. *Rev Paul Odontol* 1992;14(4):37-40.

Shanon H, Spenser P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int* 1993;24(1):39-44.

Sharawy M, Yaeger JA. Esmalte. In: Bhaskar SN. *Histologia e embriologia de Orban*. São Paulo: Artes Médicas; 1989.

Siew C. ADA guidelines for the acceptance of tooth-whitening products. *Compend Contin Educ Dent*. 2000;28:S44-7.

Smidt A, Weller D, Roma I, Gedalia I. Effect of bleaching agents on microhardness and surface morphology of tooth enamel. *Am J Dent* 1998;11(2):83-5.

Spalding M, Taveira LA, de 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.

Ten Cate AR. *Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função*. 5a ed. Trad. de Andrea Braga Maleri. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Ten Cate AR. Ten Cate's oral histology: development structure and function. 5th ed. Mosby: St. Louis; 1998.

Tjan AHL, Dunn JR. Temperature rise produced by various light generators through dentinal barriers. J Prosthet Dent 1988;59(4):433-8.

Westlake A. Bleaching teeth by electricity. Int Dent J 1895;1.

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;12(2):82-8.

ANEXOS

Anexo A - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



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

PARECER DE APROVAÇÃO
FR- 212267
Protocolo 162/08

Com base em parecer da relator, o Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa: 'Avaliação in situ da microdureza do esmalte humano submetido ao clareamento dental com diferentes concentrações (25% e 35%) do peróxido de hidrogênio', de responsabilidade do Pesquisador Letícia Chun Pei Pan, sob orientação do Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo.

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, 17 de fevereiro de 2009.

Prof. Dr. João Gusberto de Cárqueira Luz
Coordenador do CEP-FÓUSP

Anexo B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As informações contidas neste termo têm o objetivo de firmar o consentimento livre e esclarecido, através do qual você, sujeito da pesquisa, autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre-arbítrio e livre de qualquer coação.

Avaliação *in situ* da microdureza do esmalte humano submetido ao clareamento dental com diferentes concentrações do peróxido de hidrogênio.

· *Objetivos*

Tendo em vista a existência de dúvidas e incertezas clínicas da microdureza final do esmalte dental pós clareamento realizado em consultório, e aos restritos estudos *in situ* encontrados na literatura, torna-se importante analisar alterações desta superfície dental frente à utilização de diferentes clareadores de aplicação em consultório.

· *Procedimentos que serão utilizados na pesquisa*

Inicialmente o voluntário passará por um exame clínico para verificar sua possibilidade de tratamento e em seguida será fornecida uma escova e um dentífrico para ser utilizado durante a pesquisa. Será realizado o tratamento clareador de consultório no consultório odontológico da APMG - Academia Policial Militar do Guatupê PMPR. O voluntário será chamado para a realização de uma avaliação no consultório. Durante as seções, 48 horas e 7 e 14 dias após serão removidos os fragmentos cimentados para avaliar a microdureza do esmalte em diferentes tempos.

· *Possíveis riscos ou desconfortos*

Hipersensibilidade dentinária transitória - em aproximadamente 15 % dos pacientes apresentam algum tipo de sensibilidade, que cessa com a interrupção do clareamento ou utilização de agentes dessensibilizantes.

Risco de um efeito co-carcinogênico é relatado em poucos trabalhos, entretanto, como uma medida cautelar, é necessário parar de fumar e de consumir bebidas alcoólicas durante o experimento.

Entretanto, o voluntário é livre para desistir a qualquer momento durante a pesquisa.

· *Benefícios do Experimento*

Analisar a microdureza do esmalte dental frente à utilização de diferentes agentes clareadores de aplicação em consultório.

Além dos resultados clareadores obtidos no experimento, em ambas as arcadas, os voluntários receberão gratuitamente o material para higiene bucal (escova e dentífrico) e profilaxia. Serão fornecidos sem custo algum ao final do clareamento de consultório, moldeiras das arcadas inferiores e gel clareador, a fim de que os voluntários tenham seus sorrisos harmonizados, pela técnica do clareamento caseiro, ao término do experimento.

· *Métodos alternativos existentes*

O clareamento dental externo é o procedimento mais conservador para se alterar a cor dos dentes.

Outros métodos envolvem a confecção de facetas diretas ou indiretas e coroas puras em porcelana que levam ao desgaste de estrutura dentária sadia.

· *Acompanhamento e assistência e garantia de esclarecimentos sobre a metodologia*

Os voluntários têm a garantia de que receberão respostas a qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida, acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

Assumem também, os pesquisadores, o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando dele.

Os pesquisadores acompanharão e assistirão os voluntários a todo o momento, durante a pesquisa ou quando assim solicitados.

· *Liberdade do sujeito de se recusar a participar da pesquisa*

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de retirar seu consentimento ou se recusar a participar, e deixar de participar do estudo a qualquer momento, conforme determinação da Resolução 196/96 do CNS do Ministério da Saúde. Caso deixe de participar do estudo por qualquer razão o sujeito não sofrerá qualquer tipo de prejuízo.

· *Garantia de sigilo*

Comprometem-se os pesquisadores de resguardar todas as informações individuais acerca da pesquisa, tratando-as com impessoalidade e não revelando a identidade do sujeito que as originou.

· *Formas de ressarcimento de despesas e de indenização*

Não existirão despesas aos indivíduos nesta pesquisa, dessa forma não está prevista qualquer forma de ressarcimento das despesas decorrentes da participação da pesquisa, uma vez que o tratamento realizado não será invasivo e não oferecerá riscos ou danos permanentes ao indivíduo.

· *INSTRUÇÕES NECESSÁRIAS*

Para que possamos obter resultados confiáveis e que não ofereçam qualquer tipo de risco é preciso que cada voluntário siga criteriosamente as seguintes recomendações:

Deverão passar por um criterioso exame clínico e anamnese para que possível atividade de cárie ou doença periodontal seja detectada. Nesse exame, os portadores de próteses ou aparelhos ortodônticos fixos ou removíveis, voluntárias grávidas ou amamentando e os fumantes serão excluídos da pesquisa. A etiologia da alteração de cor será determinada, bem como a cor inicial dos dentes.

Utilizar, os dentífricos e as escovas fornecidas, abstendo-se, contudo, de soluções para bochechos ou produtos que não tenham sido fornecidos pelos pesquisadores responsáveis.

Na hora de dormir, realizar a higienização com a escova e dentífrico, complementado pelo uso de fio dental.

Para a solução de quaisquer dúvidas ou problemas em relação ao **desenvolvimento da pesquisa** contatar o pesquisador responsável pelo telefone (0XX41) 9964-2606, se houver dúvidas sobre a **ética da pesquisa** entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (Av. Lineu Prestes 2227, 05508-000 São Paulo).

Por este instrumento particular declaro, para efeitos éticos e legais, que eu (nome)

_____, (nacionalidade) _____, (profissão) _____,
portador(a) do R.G. _____, C.P.F. _____,
residente _____ e domiciliado(a) _____ à Rua _____

_____, na cidade de _____, Estado _____, concordo com absoluta consciência dos procedimentos a que vou me submeter para a realização da fase experimental da pesquisa – sob responsabilidade da Cirurgiã-dentista Leticia Chun Pei Pan, R.G. n 5.249.427-3/ PR– nos termos abaixo relacionados:

Esclareço que recebi todas as informações sobre minha participação nesse experimento, possuindo plena liberdade para me abster em participar da referida pesquisa em qualquer momento, sem prejuízo financeiro, hierárquico ou de qualquer natureza;

Esclareço, também, que fui amplamente informado por um profissional que não está envolvido na pesquisa, sobre os possíveis benefícios e riscos aos quais estou me submetendo durante este experimento, tomando conhecimento de que o meu consentimento não exime a responsabilidade do pesquisador; Todas essas normas estão de acordo com a Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

Por estar de pleno acordo com o teor do presente termo, assino abaixo o mesmo.

Curitiba, _____ de _____ de 2008.

Nome: _____

Assinatura: _____

APÊNDICES

Apêndice A – Dados estatísticos ANOVA

(Tipos de peróxido de hidrogênio e Tempos analisados)

Modelo: aov(formula = resp ~ Peróxido * Tempo, data = total)				
Termos	Peróxido	Tempo	Peróxido*Tempo	Residuals
Sum of Squares	1884.3	507541.2	31914.5	633870.7
Deg. of Freedom	1	5	5	225
Residual Standard Error				53.07733

Quadro 5.1 – ANOVA (Tipo do peróxido de hidrogênio e Tempos analisados)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F Value	Pr(>F) (p<0,05)
Peróxido	1	1884	1884	0.6688	0.41432
Momento	5	507541	101508	36.0316	<2e-16
Peróxido*Momento	5	31914	6383	2.2657	0.04894
Residuals	225	633871	2817		

Quadro 5.2 – ANOVA (Tipo do peróxido de hidrogênio e Tempos analisados)

	Diff	Lwr	Upr	P Adj (p<0,05)
2:T0 – 1:T0	3.550500	-35.64936	42.750360	1.0000000
1:T1 – 1:T0	-67.484250	-106.68411	-28.284390	0.0000026
2:T1 – 1:T0	-86.209000	-125.40886	-47.009140	0.0000000
1:T2 – 1:T0	-139.260250	-207.15640	-71.364100	0.0000000
2:T2 – 1:T0	-105.566250	-167.54667	-43.585829	0.0000035

1:T3 – 1:T0	-113.429139	-178.10561	-48.752669	0.0000015
2:T3 – 1:T0	-84.266250	-146.14667	-22.285829	0.0006854
1:T4 – 1:T0	-135.467250	-197.44767	-73.486829	0.0000000
2:T4 – 1:T0	-94.733250	-156.71367	-32.752829	0.0000582
1:T5 – 1:T0	-117.399250	-179.37967	-55.418829	0.0000001
2:T5 – 1:T0	-72.300250	-134.28067	-10.319829	0.0082254
1:T1 – 2:T0	-71.034750	-110.23461	-31.834890	0.0000006
2:T1 – 2:T0	-89.759500	-128.95936	-50.559640	0.0000000
1:T2 – 2:T0	-142.810750	-210.70690	-74.914600	0.0000000
2:T2 – 2:T0	-109.116750	-171.09717	-47.136329	0.0000013
1:T3 – 2:T0	-116.979639	-181.65611	-52.303169	0.0000006
2:T3 – 2:T0	-87.816750	-149.79717	-25.838329	0.0003055
1:T4 – 2:T0	-139.017750	-200.99817	-77.037329	0.0000000
2:T4 – 2:T0	-98.283750	-160.26417	-36.303329	0.0000239
1:T5 – 2:T0	-120.949750	-182.93017	-58.969329	0.0000000
2:T5 – 2:T0	-75.850750	-137.83117	-13.870329	0.0040982
2:T1 – 1:T1	-18.734750	-57.92461	20.475110	0.9154323
1:T2 – 1:T1	-71.776000	-139.67215	-3.879850	0.0279884
2:T2 – 1:T1	-38.082000	-100.06242	23.898421	0.6729384
1:T3 – 1:T1	-45.944889	-110.06242	18.731581	0.4472285
2:T3 – 1:T1	-16.782000	-78.76242	45.198421	0.9991275
1:T4 – 1:T1	-67.983000	-129.96342	-6.002579	0.0182458
2:T4 – 1:T1	-27.249000	-89.22942	34.731421	0.9514577
1:T5 – 1:T1	-49.915000	-111.89542	12.065421	0.2535792

2:T5 – 1:T1	-4.816000	-66.79642	57.164421	1.0000000
1:T2 – 2:T1	-53.051250	-120.94740	14.844900	0.2970296
2:T2 – 2:T1	-19.357250	-81.33767	42.623171	0.9968162
1:T3 – 2:T1	-27.220139	-91.89661	37.456331	0.9644273
2:T3 – 2:T1	1.942750	-60.03767	63.923171	1.0000000
1:T4 – 2:T1	-49.258250	-111.23867	12.722171	0.2722673
2:T4 – 2:T1	-8.524250	-70.50467	53.456171	0.9999990
1:T5 – 2:T1	-31.190250	-93.17067	30.790171	0.8832160
2:T5 – 2:T1	13.908750	-48.07167	75.889171	0.9998556
2:T2 – 1:T2	33.694000	-49.46146	116.84946	0.9731204
1:T3 – 1:T2	25.831111	-59.35283	111.015052	0.9975481
2:T3 – 1:T2	54.994000	-28.16146	138.149461	0.5627438
1:T4 – 1:T2	3.793000	-79.36246	86.948461	1.0000000
2:T4 – 1:T2	44.527000	-38.62846	127.682461	0.8331759
1:T5 – 1:T2	21.861000	-61.29446	105.016461	0.0003380
2:T5 – 1:T2	66.960000	-16.19546	150.115461	0.2537451
1:T3 – 2:T2	-7.862889	-88.41094	72.685167	1.0000000
2:T3 – 2:T2	21.300000	-57.09972	99.699720	0.9990994
1:T4 – 2:T2	-29.901000	-108.30072	48.498720	0.9831119
2:T4 – 2:T2	10.833000	-67.56672	89.232720	0.9999990
1:T5 – 2:T2	-11.833000	-90.23272	66.566720	0.9999974
2:T5 – 2:T2	33.266000	-45.13372	111.665720	0.9622639
2:T3 – 1:T3	29.162889	-51.38517	109.710945	0.9888560
1:T4 – 1:T3	-22.038111	-102.58617	58.509945	0.9990386

2:T4 – 1:T3	18.695889	-61.85217	99.243945	0.9997992
1:T5 – 1:T3	-3.970111	-84.51817	76.577945	1.0000000
2:T5 – 1:T3	41.128889	-39.41917	121.676945	0.8726688
1:T4 – 2:T3	-51.201000	-129.60072	27.198720	0.5824358
2:T4 – 2:T3	-10.467000	-88.86672	67.932720	0.9999993
1:T5 – 2:T3	-33.133000	-111.53272	45.266720	0.9633405
2:T5 – 2:T3	11.966000	-66.43372	90.365720	0.9999971
2:T4 – 1:T4	40.734000	-37.66572	119.133720	0.8591422
1:T5 – 1:T4	18.068000	-60.33172	96.467720	0.9998127
2:T5 – 1:T4	63.167000	-15.23272	141.566720	0.2529426
1:T5 – 2:T4	-22.666000	-101.06572	55.733720	0.9984047
2:T5 – 2:T4	22.433000	-55.96672	100.832720	0.9985480
2:T5 – 1:T5	45.099000	-33.30072	123.498720	0.7581308
Quadro 5.3 – ANOVA(Tipo do peróxido de hidrogênio e Tempos analisados)				

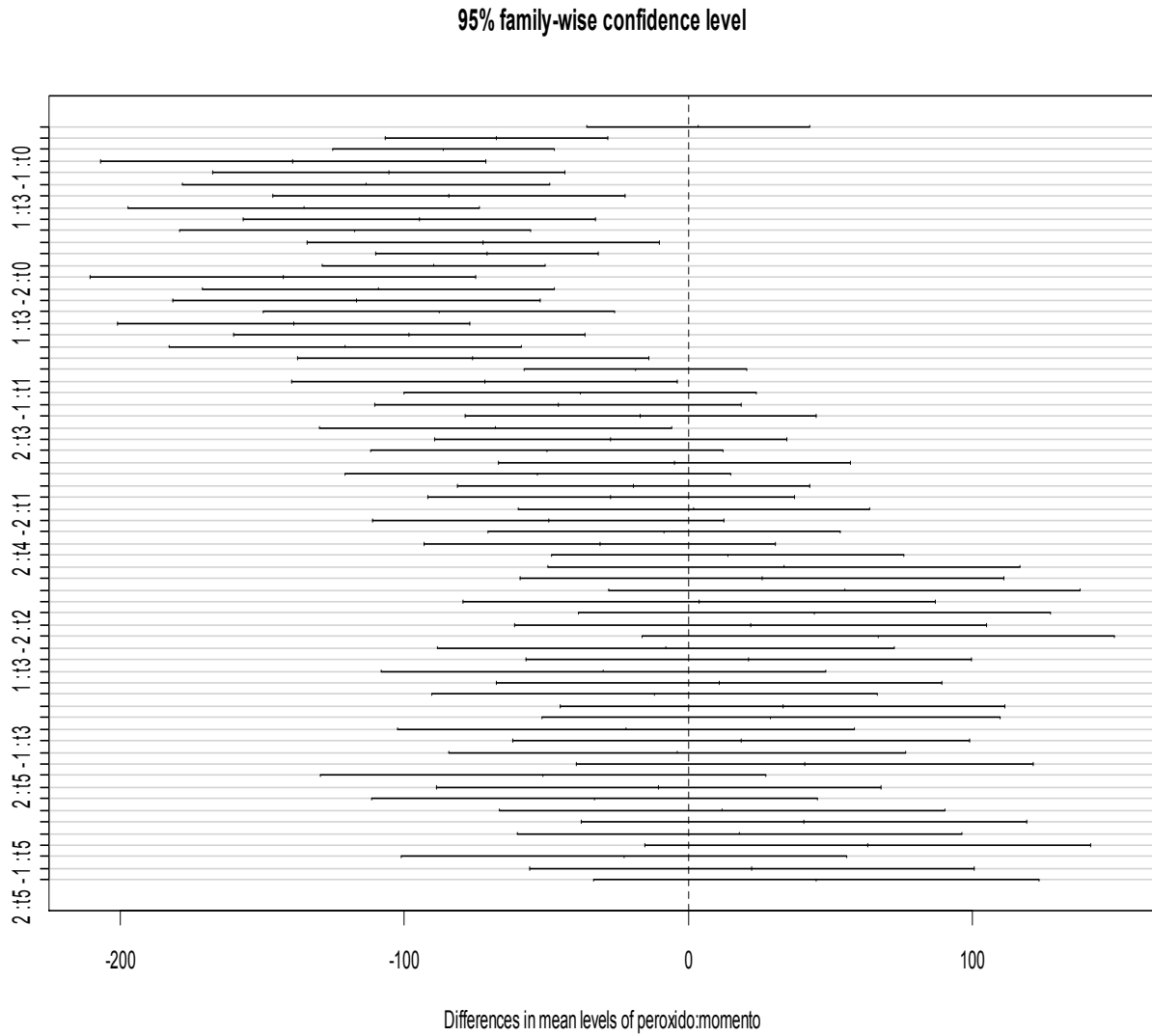


Gráfico 5.1 – Tipos do peróxido de hidrogênio e Diferentes tempos do estudo

Apêndice B– Dados estatísticos ANOVA

(Tipos de peróxido de hidrogênio 25% e 35%)

	Diff	Lwr	Upr	P Adj (p<0,05)
1 - 2	5.63978	-7.949302	19.22886	0.4143201

Quadro 5.4 – ANOVA (Tipos do peróxido de hidrogênio 25% e 35%)

1 – Peróxido de Hidrogênio a 25%;

2 – Peróxido de Hidrogênio a 35%.

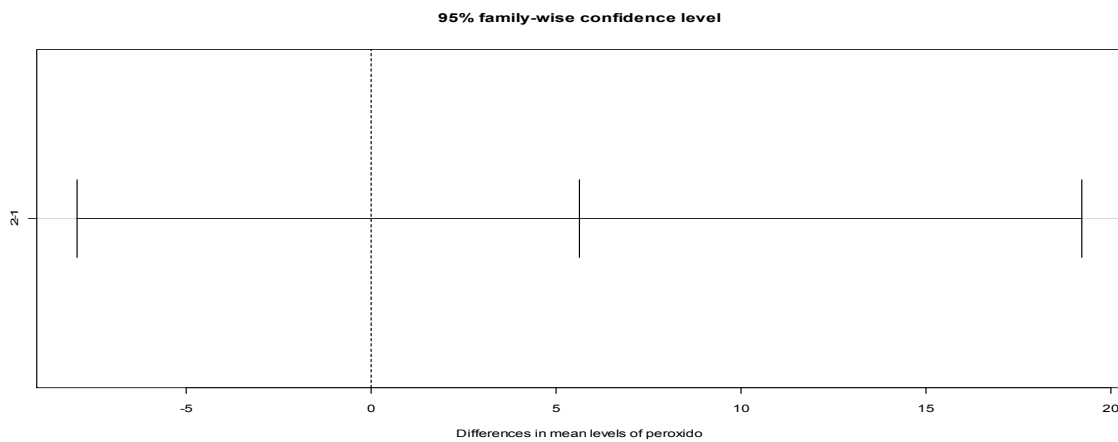


Gráfico 5.2 – Tipos do peróxido de hidrogênio (25% 3 35%)

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](#)