

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DENTÍSTICA RESTAURADORA**

JOHN ALEXIS DOMINGUEZ

**AVALIAÇÃO ULTRAESTRUTURAL DO ESMALTE APÓS CLAREAMENTO DENTAL
ASSOCIADO COM FLUOR**

**PONTA GROSSA
2012**

JOHN ALEXIS DOMINGUEZ

**AVALIAÇÃO ULTRAESTRUTURAL DO ESMALTE APÓS CLAREAMENTO DENTAL
ASSOCIADO COM FLUOR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Dentística Restauradora.

Orientadora: Profa. Dra. Osnara Maria Mongruel Gomes

Co-orientador: Prof. Dr. João Carlos Gomes

PONTA GROSSA

2012

Ficha catalográfica elaborada pelo Setor Tratamento da Informação BICEN/UEPG

D671a Dominguez, John Alexis
Avaliação ultraestrutural do esmalte após clareamento
dental associado com flúor / John Aléxis Dominguez. Ponta
Grossa, 2012.
56 f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia – área de concentração :
Dentística Restauradora), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientadora: Profa. Dra. Osnara Maria Mongurel Gomes
Coorientador : Prof. Dr. João Carlos Gomes

1. Clareamento dental. 2. Peróxido de hidrogênio. 3. Flúor.
I. Gomes, Osnara Maria Mongrue. II. Gomes, João Carlos. III.
Universidade Estadual de Ponta Grossa.. Mestrado em Odontologia
IV.T.

CDD: 617.6

JOHN ALEXIS DOMINGUEZ

**AVALIAÇÃO ULTRAESTRUTURAL DO ESMALTE APOS CLAREAMENTO DENTAL
ASSOCIADO COM FLÚOR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Mestrado em Odontologia – Área de concentração em Dentística Restauradora.

Ponta Grossa, 23 de fevereiro de 2012.

Profa. Dra. Osnara Maria Mongruel Gomes – Orientadora
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr. João Carlos Gomes
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr. Camillo Anauate Netto
Universidade Bandeirante de São Paulo

DADOS CURRICULARES

JOHN ALEXIS DOMINGUEZ

NASCIMENTO 03.09.1979

Santiago de Cali- Colômbia

FILIAÇÃO

Nury Yanith Dominguez

1998 – 2003

Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Santiago de Cali. Santiago de Cali – Colômbia.

2004 – 2004

Curso de Aperfeiçoamento em Odontologia Neurofocal – Centro médico Biológico O'Byrne- Cali-Colômbia.

2005 – 2005

Curso de Odontologia Estética – Universidade Cooperativa de Colômbia, San Juan de Pasto – Colômbia.

2010- Andamento

Curso de Pós-graduação e Odontologia. Área de Concentração em Dentística Restauradora. Nível Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Ponta Grossa – PR, Brasil.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

De antemão devo dizer que minha vida mudou com a decisão de fazer meus estudos no exterior, não só pelo fato de morar no Brasil ou pelos sacrifícios feitos, sobre tudo pela capacidade de sobreviver a situações que nunca pensei experimentar por múltiplos problemas que aconteceram após a minha chegada, para cada uma dessas pessoas que sabem o fato, uma pequena homenagem nesta folha:

Primeiro e sem dúvida nenhuma, DEUS, acho que é o único que sabe o que aconteceu cada segundo de minha vida no ano 2010, e no momento mais difícil enviou um sinal perfeito para poder sair do vácuo mental.

A minha mãe, que é a pessoa que mais admiro, por sua capacidade de sair frente a situações mais difíceis e por ser meu exemplo a seguir.

A LORENA RUSSI, meu amor, por ter-me falado o 13 de fevereiro e hoje estar aqui cumprindo uns de meus sonhos é teu também, o triunfo, lembre sempre é teu também.

A minha Família MAÑA, Mi tia ESNEIRA, tio Hernan, Hernan Adolfo, Jacki, Pizo, Manuela, que nunca deixaram de acreditar em mim, muito Obrigado.

A minha segunda mãe Alicia Trujillo, por sempre estar ali nos momentos difíceis de minha vida. Muito obrigado.

Lucho, não posso esquecer-me de você, muitos momentos tive ajudas muito importante e sabe a que faço referência, por isso minha mão de amizade eterna.

Juancho, meu melhor amigo, nas boas e não tão boas horas, abraço irmão de todo coração e um passo mais para o sonho de nossos futuros filhos viver no mundo maravilhoso.

Professora Osnara, “Deus sabe como faz as coisas”, dizia minha avó, Deus colocou a Senhora no caminho, porque com você aprendi muitas coisas que eu fazia errado como professor na vida, sua paciência pedagógica, seu amor pela odontologia, a capacidade de entender a cada um de seus orientados, a inteligência emocional de passar por momentos difíceis e ainda assim ter para mim um sorriso e uma correção a tempo, muito obrigado Professora Osnara sempre estará em minhas lembranças em cada passo de minha vida.

Professor João Carlos Gomes, pela oportunidade dada, de cumprir um sonho, muito obrigado, não sabe o bem que fez para minha vida.

**Os sonhos não determinam o lugar aonde vamos chegar, mas
produzem a força necessária para nos tirar do lugar onde
estamos. Libertam-nos da condição de espectadores e
nos tornam atores sociais**

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual de Ponta Grossa, por existir, por ter toda uma série de ferramentas que fizeram minha vida prazerosa e fez viver coisas que levarei para meu país.

Aos meus professores (Fábio André, Alessandro Loguércio, Vitoldo, Leide, Denise, Abraham, Stella, Nara) só posso agradecer, por terem sido meu sustento em meu passo pelo mestrado na UEPG, muito obrigado.

A Jose David Ruan parte por estar aqui é por Você, muito obrigado.

Os alunos de terceiro ano por permitir aprender com eles ser melhor professor e poder construir uma confiança acadêmica, muito obrigado.

Aos meus colegas de mestrado, por ter compartilhado esses dois anos comigo e construído espaços, que o tempo não fará esquecer os momentos vividos e com a possibilidade sempre de ter um espaço em comum, nossa alma mater.

A Minha dupla querida (Bruna Bittencourt), com quem aprendi muito e conseguimos levar muitas coisas em comum, por suas palavras a tempo, por sua força, por seu sorriso que faz alegrar a vida nos momentos difíceis, por isso e muito mais agradeço a Deus ter colocado você como dupla em nosso trabalho, muito obrigado e Deus Abençoe junto a família que quer formar com Daniel.

O Andrés Felipe, por ter-me agüentado dois anos de convivência, duas personalidades diferentes, que encontraram sua centralidade com a paciência e compressão de cada um, muito obrigado.

Ao Antonio por ter-me passado sua capacidade clínica sem nenhum interesse sempre estar aberto a falar de odontologia e das coisas da vida, muito obrigado e bom caminho com Amanda.

A Luisa por sua personalidade, sua ajuda nos momentos que mais precisei.

A Ana, Bruna, Reila as meninas do Professor Fábio André, por estar em um espaço para poder distrair as mentes nos momentos que não dava mais a discussão de nossas dissertações.

A Issis, Yileng, Alessandra, Lara, Felipe e demais moradores do antigo Pires agora residencial Universitários, pelos fins de semana e por ter a paciência de escutar minhas musicas, muito obrigado.

Ao Senhor Noel por ter-me recebido e apoiado em nosso lar.

A lanchonete da Vall, que fez minhas noites depois do laboratório muito mais prazerosas e momentos que precisava falar e dar risada sempre estava para bater um papo, obrigado.

A meus amigos da infância Victor com a Gargolin e sua filha, Andres, Jacke junto o Camilo e o Miguel, Jefferson, Sandra Makro e o Juancho, muito obrigado.

O Nilson, pelo apoio a minha dissertação no aparelho de Força atômica, e Milton no MEV e Vermelho no microdurometro Vickers, muito obrigado.

A Sida por sempre ter alguém para pegar no pé dela agradece a Deus que conseguiu namorado. Obrigado.

Janaina e Morgana por sempre estarem ali para ajudar em tudo o que precisar.

A Universidade Santiago de Cali pela ajuda a distância.

RESUMO

Dominguez JÁ. **Avaliação ultraestrutural do esmalte após clareamento dental associado com flúor.** [Dissertação Mestrado em Dentística Restauradora]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2012.

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de dois geis clareadores de alta concentrações, um com adição de flúor e outro com aplicação tópica, sobre a superfície do esmalte (nanodureza e rugosidade). Foram utilizados 43 blocos do esmalte (3 mm^2), os quais foram lixados com lixas de 600 a 2000 de granulação e polidos com pastas para polimento ($1 \text{ e } \frac{1}{4}$). Em seguida, os blocos foram aleatoriamente divididos em grupos segundo os procedimentos realizados: 1- Sem nenhum tratamento (C); 2- Peróxido de hidrogênio 35% (HPF) e aplicação de flúor 1,23% e 3- Peróxido de hidrogênio 38% (OP) com flúor adicionado no gel. Os clareamentos foram realizados segundo recomendações dos fabricantes. Três metodologias foram utilizadas: nanodureza, onde se observou a dureza superficial e o módulo de elasticidade; Microscopia de Força Atômica (MFA) onde foi avaliada a rugosidade (Ra-Rz) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) onde foi avaliada a erosão. Os dados apresentaram uma distribuição normal, segundo normalidade D'Agostino, o teste de nanodureza e MFA foram analisados com ANOVA um fator e teste Tukey com nível de significância $\alpha=0,05$ e, os dados de MEV foram transformados em porcentagem. O grupo OP teve diminuição do módulo de elasticidade (GPa) depois do clareamento ($098,2 \pm 2,6$), mas foi recuperado os valores normais 14 dias após o clareamento ($102,7 \pm 3,3$), o Grupo HPF teve aumento da rugosidade (Ra) ($37,9 \pm 28,6 \%$) e aumento da erosão em 83,3%. Concluiu-se que o flúor incorporado ao agente clareador ou sua aplicação tópica não afetou a nanodureza do esmalte dental. O agente clareador com flúor incorporado promoveu, imediatamente após o clareamento dental, diminuição no módulo de elasticidade do esmalte dental. A aplicação tópica do flúor, após o uso do agente clareador sem flúor, aumentou os valores de rugosidade e erosão do esmalte dental.

Palavras-chave: Clareamento Dental. Peróxido de Hidrogênio. Flúor.

ABSTRACT

Dominguez JÁ. **Ultrastructural evaluation of enamel after dental bleaching associated with fluoride.** [Dissertação Mestrado em Dentística Restauradora]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2012.

The objective of this study was to evaluate the effects of two high concentration bleaching agents on human enamel surface, nanohardness and roughness. It was used 43 enamel blocks (3 mm^2) that were ground flat (600 to 2000 grit) and polished with polishing pastes (1 and $\frac{1}{4}$). After if specimens were randomly divided into groups, according to the bleaching procedure: 1- Hydrogen peroxide 35% (HPF) and application of fluoride 1.23%, 2- Hydrogen peroxide 38% (OP) with fluoride in its composition. Bleaching agents were used according to manufacturer's instructions. Three methodologies were utilized: nanohardness to observe surface hardness and elastic modulus; Atomic Force Microscopy (AFM) to observe surface roughness (R_a - R_z) and Scanning Electron Microscopy (SEM) to observe the enamel surface effects. The data had a normal distribution according to D'Agostino normality test, the nanohardness and AFM, were analyzed using one factor ANOVA Tukey's test with significance level $\alpha=0,05$, and SEM data were transformed into percentage. Group OP had a decrease in the elastic modulus (GPa) after bleaching (098.2 ± 2.6), which was recovered at 14 days (102.7 ± 3.3). An increased roughness (R_a) ($37.9 \pm 28.6\%$) was observed and group HPF had an increased erosion on enamel surface (67%). It was concluded that fluoride incorporated into the bleaching agent or its topical application in no deleterious effects nanohardness on enamel surface. The fluoride incorporated results into the bleaching gel, a decreased the elastic modulus immediately after bleaching. Topical application of fluoride after using the bleaching agents increased the values of roughness and erosion of tooth enamel.

Keywords: Tooth Bleaching., Hydrogen Peroxide , Fluoride.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Passo a passo para obtenção dos blocos de esmalte. A- Corte da Raiz, B- Corte de mesial a distal, C- Corte de mesial a distal vista lateral, D- Desenho do quadro para o corte na face vestibular, E e F- Corte do bloco e G-Visão aproximadado bloco.....	32
Figura 2	Desenho esquemático representativo da Rugosidade Média (Ra).....	37
Figura 3	Desenho esquemático representativo da Distância Média (Rz).....	38
Figura 4	Fotomicrografias por AFM. A) e B) Grupo HPF antes do Clareamento dental.....	41,42
Figura 5	Fotomicrografias por AFM. C) e D) Grupo HPF depois do Clareamento dental.....	42,43
Figura 6	Fotomicrografias por AFM. E) e F) Grupo OP antes do Clareamento dental.....	43,44
Figura 7	Fotomicrografias por AFM. G) e H) Grupo OP depois do Clareamento dental.....	44,45
Figura 8	Fotomicrografia por MEV do esmalte – Grupo Controle, com aumento de 5000 X.....	46
Figura 9	Fotomicrografia por MEV do esmalte – Grupo HPF, com aumento de 5000 X.....	46
Figura 10	Fotomicrografia por MEV do esmalte – Grupo OP, com aumento de 5000 X.....	46
Fluxograma1	Distribuição das metodologias de acordo os grupos de estudo.....	35
Quadro 1	Grupos de estudo	33
Quadro 2	Materiais utilizados no estudo, fabricante, protocolo de uso, composição e lote.....	34
Quadro 3	Avaliação qualitativa das imagens ao MEV	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valor médio e desvio padrão de nanodureza (GPa) e do módulo de elasticidade do esmalte (GPa) imediato e 14 dias após o clareamento dental.....	40
Tabela 2	Valor médio e desvio padrão do percentual da rugosidade do esmalte (μm) antes e após o clareamento dental	41
Tabela 3	Número e porcentagens das superfícies de esmalte com e sem erosão.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Angstrom
AFM	Microscopia de Força Atômica
BDH	Banco de dentes humanos
cm	Centímetro
C	Controle
μm	Micrômetro
g	Grama
GPa	Gigapascal
h	Hora
HPF	Whiteness HP MAX
Hz	Hertz
min	Minuto
mm	Milímetro
mm ²	Milímetro quadrado
mL	Mililitros
mN	MiliNewton
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
n	Número amostral
N	Newton
N/min	Newton por minuto
pH	Potencial de hidrogênio iônico
PVC	Policloreto de vinila
OP	Opalescence Boost PF
rpm	Rotações por minuto
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Gross

LISTA DE SÍMBOLOS

=	Igual
+	Mais
±	Mais ou menos
<	Menor
%	Porcentagem
&	E
X	Aumento de lente óptico
α	Alfa (nível de significância)
° C	Grau Célsius
n°	Número
p	Significância estatística
®	Registrado
s	Segundo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3. PROPOSIÇÃO.....	30
3.1 PROPOSIÇÃO GERAL.....	30
3.2 PROPOSIÇÃO ESPECÍFICA.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 SELEÇÃO DOS DENTES.....	31
4.2 PREPARO DOS DENTES.....	31
4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	32
4.3.1 Tratamento clareador.....	33
4.4 ENSAIOS DE NANOINDENTAÇÃO.....	35
4.5 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.....	36
4.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	38
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
5. RESULTADOS.....	40
5.1 NANODUREZA.....	40
5.2 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA	40
5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	46
6.DISCUSSÃO.....	48
7. CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
ANEXO – Aprovação do projeto pela Comissão de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual de Ponta Grossa COEP-UEPG.....	58

1 INTRODUÇÃO

O esmalte dentário é o tecido conhecido mais altamente mineralizado, consistindo em 96% de mineral e 4% de material orgânico e água. O conteúdo inorgânico do esmalte é um cristalino de fosfato de cálcio e hidroxiapatita (87%) sendo sua fórmula estequiométrica $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Sydney-Zax et al. ¹ 1991). Estes cristalinos estão organizados em prismas e interprismas com diferença em sua orientação. A porção orgânica é composta por polipeptídeo amelogenina rico em tirosina, uma seqüência de peptídeos firmemente ligados aos cristais de hidroxiapatita, assim como as proteínas não-amelogeninas (Laurance-Young et al. ² 2011)

Devido ao conteúdo mineralizado o esmalte é altamente duro, propriedade esta que permite a ele suportar as forças mecânicas aplicadas durante o funcionamento da mastigação. Tal dureza é comparável a do aço maleável, o que também o torna frágil; por isso uma camada subjacente de dentina mais resiliente é necessária para manter a sua integridade. Muitos autores têm mensurado o seu módulo de elasticidade (Stanford et al. ³ 1958, Craig et al. ⁴ 1961, Hassan et al. ⁵ 1981, Xu et al. ⁶ 1998, White et al. ⁷ 2001, Habelitz et al. ⁸ 2002, Barbour et al. ⁹ 2003). He e Swain¹⁰ (2008), em seu artigo “Entendimento do mecanismo do esmalte humano”, revisaram as mensurações do módulo de elasticidade por diferentes metodologias, onde concluíram que quanto menor a área de contato mensurada, maior será o módulo de elasticidade, argumentado pela composição do esmalte e orientação dos cristais e sua propriedade anisotrópica.

O procedimento de clareamento dental vem sendo utilizado há muito tempo na Odontologia. Existem relatos de Harman et al.¹¹, já em (1984), descrevendo o uso de agente oxidante instável com a finalidade de clarear dentes escurecidos. Entretanto, o clareamento dental popularizou-se a partir de 1989 com o uso da moldeira individual para clareamento vital proposto por Haywood e Heymann¹² (1989), quando o peróxido de hidrogênio interage com o dente se decompondo em radicais livres hidroxila e água. Os radicais liberados são radicais livres que iniciam processos de oxidação e procuram com quem reagir, sendo que a reação pode decompor moléculas orgânicas como manchas com cadeias longas e curtas (Carlsson¹³ 1987, Jung et al. ¹⁴ 2002, Jiang et al. ¹⁵ 2008).

Todavia, os efeitos dos agentes clareadores ainda não são inteiramente conhecidos. Alguns autores têm demonstrado uma ausência de efeitos deletérios sobre a superfície de esmalte Totada et al.¹⁶ (2008), redução da microdureza do esmalte, Soldani et al.¹⁷ (2010), porém deve-se presumir que essa alteração reflete não apenas o procedimento do clareamento, mas também o tipo de formulação utilizada. Alguns autores encontraram um aumento na rugosidade entre seus resultados (Ushigome et al.¹⁸ 2009, Mahringer et al.¹⁹ 2009) porém, existe uma controvérsia entre estes efeitos, pois, De Abreu et al.²⁰ (2011) demonstraram efeito exatamente contrário. Cavalli et al.²¹ (2011) realizaram uma pesquisa onde concluíram que os procedimentos do clareamento dental provocam perda de cálcio, já que o peróxido de hidrogênio penetra na estrutura no esmalte por meio do espaço da proteína (amelogenina e enamilina) em torno dos cristais de hidroxiapatita.

Attin et al.²² (2009), em uma revisão bibliográfica, com artigos publicados com a referência de dureza Vickers, Knoop e clareamento dental, encontraram maior porcentagem na redução de microdureza em relação aos valores iniciais, nas medições feitas após o tratamento. A possibilidade de remineralização do esmalte após o clareamento foi pesquisada com resultados conflitantes, como relatado por Oliveira et al.²³ (2005). De acordo com esses autores a adição de flúor e cálcio aos agentes clareadores não inibiu a perda de minerais e a diminuição de microdureza, levando em consideração que vários estudos (de Magalhães et al.²⁴ 2009, Lewinstein et al.²⁵ 2004) têm provado que o flúor contribui para a remineralização do esmalte. Entretanto, é pouco conhecido a influência do flúor no esmalte após o clareamento dental.

Baseado nessas contradições e devido às escassas informações e surgimento de novos agentes clareadores, este estudo *in vitro* avaliou os efeitos de peróxidos de hidrogênio 35% e 38% na ultraestrutura do esmalte após clareamento dental associado ao flúor.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Attin et al.²⁶ (1997) avaliaram a capacidade de remineralização de diferentes tratamentos com flúor após clareamento dental com peróxido de carbamida 10%. Foi utilizado 60 fragmentos de dentes bovinos, oriundos da superfície vestibular com uma área de 4 mm², sendo os mesmos submetidos a 4 ciclos de clareamento dental por 12 horas com peróxido de hidrogênio 10% e, em seguida, submetidos a um processo de remineralização por 8 horas depois de cada ciclo. Foram divididos em 4 grupos experimentais (n=15): Grupo A: após cada ciclo aplicou-se 1 hora de verniz fluoretado (flúor 2,23%) e nas 7 horas restantes foi colocado em saliva artificial ; Grupo B: após cada ciclo foi aplicado durante um minuto fluoreto de sódio 0,2% e depois colocado em saliva artificial; Grupo C: sem flúor após clareamento dental e Grupo D: sem clareamento (grupo controle). O teste de microdureza Vickers foi realizado depois do segundo e quarto ciclos com uma carga de 1-961 N/30 s. Os dados foram analisados com ANOVA com medidas repetidas com um nível de significância de P<0,01. Observou-se que a diminuição da dureza foi estatisticamente significativa comparada com o grupo controle, no entanto, as amostras não fluoretadas produziram a maior diminuição da dureza, não sendo encontrada diferença entre os grupos fluoretados. Os autores concluíram que a aplicação de flúor aumentou os valores de dureza e possibilitou a remineralização.

Hegedüs et al.²⁷ (1999) avaliaram duas marcas comerciais de peróxido de carbamida 10% e um gel experimental a base de Peróxido de hidrogênio 30% sobre a superfície de esmalte. Utilizaram quinze dentes incisivos humanos (10 superiores e 5 inferiores) divididos aleatoriamente em três grupos: (Grupo I – Opalescence (Peróxido de carbamida 10%); Grupo II - Nite White (Peróxido de carbamida 10%) e Grupo III - Peróxido de hidrogênio 30%). O clareamento dental foi realizado seguindo indicações do fabricante, sendo realizada a varredura para a microscopia de força atômica de 10 a 30 nm a uma velocidade de 0,06 N/m antes e após 28 horas do clareamento dental. Observou-se um aumento significativo na formação de gretas com o grupo I; no grupo II a morfologia em geral foi muito mais irregular e o grupo III não apresentou diferença entre suas imagens. Concluíram que os agentes clareadores de Peróxido de carbamida 10% apresentaram maior efeito na superfície de esmalte que o Peróxido de hidrogênio 30%.

Attin et al.²⁸ (2003) avaliaram os efeitos na formação de erosão e indução de desmineralização de um gel de peróxido de carbamida 10%. Os procedimentos foram realizados em 65 dentes bovinos, lixados até lixa 1200, sendo submetidos a 8 horas de tratamentos com peróxido de carbamida. Em seguida, os dentes foram colocados duas horas em saliva artificial e submetidos a um processo de desmineralização. Os grupos experimentais foram: Grupo A gel (pH 7,0); Grupo B gel (pH 5,7) ambos com flúor 0,5%; Grupo C gel (pH 7,0) e Grupo D gel (pH 5,7) ambos sem flúor. Depois de cada tratamento foi feito um processo de desmineralização e remineralização com 30 mL de ácido cítrico 1% por 90 segundos, eliminado com água destilada. Foram realizadas 5 indentações em diferentes partes do esmalte para avaliação da microdureza Knoop depois de cada desmineralização e remineralização do esmalte, com uma carga de 1.961 N em 15 s. Os dados foram transformados em porcentagens para serem analisados com ANOVA de dois critérios, comparado entre grupos com teste T. O esmalte foi susceptível ao tratamento com peróxido de carbamida com e sem flúor aumentando a susceptibilidade à erosão; e que o tratamento com gel de pH 7,0 diminuiu os valores de dureza superficial após tratamento com peróxido de carbamida.

Park et al.²⁹ (2004) avaliaram os efeitos da longa exposição do peróxido de hidrogênio 30% em esmalte de dentes bovinos. Foram utilizados cinco incisivos bovinos lixados na face vestibular, para permitir uma varredura de contato com microscopia de força atômica com ponta de silício de 0,02-0,01 N/m. Depois do escaneamento cada dente foi dividido, sendo a metade para clareamento com peróxido de hidrogênio 30% por 120 horas (tempo além do preconizado pelo fabricante) e a outra metade sem o uso do agente clareador. Nas mesmas amostras foi realizado espectrofotometria com FT Raman. Com outros sete incisivos bovinos foi feita microdureza Vickers a uma velocidade de 15 s e uma carga de 200 g, cada indentação foi separada por 0,5 mm. Os dados foram analisados por ANOVA um critério e Post-Test Duncan e o teste T para encontrar as diferenças entre os grupos clareados e o grupo controle. Os resultados mostraram que a microdureza diminuiu significativamente para as amostras clareadas enquanto o fator morfológico não apresentou modificações significativas. Os autores argumentaram que o aumento do tempo de exposição do esmalte com o gel clareador fez com que os materiais

residuais do processo oxidativo se incorporassem e eliminassem levemente a porção orgânica do esmalte.

Pinto et al.³⁰ (2004) avaliaram os efeitos de sete agentes clareadores na superfície do esmalte dentário: G1 - grupo controle sem tratamento; G2 - Peróxido de carbamida 10% (Whiteness Perfect); G3 - Peróxido de carbamida 10% (Colgate Platinum); G4 - Peróxido de hidrogênio 7,5% (Day White 2Z); G5 - Peróxido de carbamida 37% (Whiteness Super); G6 - Peróxido de carbamida 35% (Opalescence Quick) e G7 - Peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP). A microdureza, a rugosidade e a morfologia da superfície foram avaliadas antes e após o procedimento de clareamento dental. Foram preparados 77 fragmentos de esmalte, com uma área de trabalho de 5 mm x 5 mm x 2,5 mm, lixados de 600 – 1200 e polidos com pasta de polimento de 6 – $\frac{1}{4}$ μ m de granulação. A dureza Knoop foi realizada com uma carga de 25 g a 5 s, antes e após o tratamento. A rugosidade foi avaliada em Ra com três mensurações em direções diferentes; e a análise ao MEV observou baixa, média e grande alterações do esmalte. Os dados foram analisados com teste estatístico ANOVA dois critérios e teste de Tukey com significância de 5%. Os resultados apresentaram diferença significativa entre os tempos de avaliação na microdureza Knoop, mas não apresentaram diferença entre as medidas iniciais nos valores de Ra e nas alterações do esmalte ao MEV. Concluíram que depois dos procedimentos do clareamento dental houve diminuição da dureza superficial e aumento da rugosidade, sendo que a concentração que mais promoveu as alterações foi o Peróxido de hidrogênio 35% pela perda de minerais.

Al-Salehi et al.³¹ (2007) avaliaram os efeitos dos peróxidos de hidrogênio sobre a matriz orgânica e microdureza do esmalte e dentina. Foram utilizados 26 incisivos bovinos, fazendo blocos de 2 mm x 2 mm x 1,5 mm, totalizando 20 blocos divididos em 4 grupos imersos em 10mL de peróxido de hidrogênio: 0% (controle), 3%, 10% e 30% por 24 horas. Avaliaram por meio da espectrofotometria de plasma, a liberação de íons de cálcio e fósforo. Para a análise da liberação de íons foi utilizado estatística não-paramétrica Kruskal-Wallis e teste post-hoc de Mann Whitney para determinar diferenças significativas com ajuste de Bonferroni. A microdureza foi analisada por meio de teste T pareado. Os resultados mostraram que as diferenças de liberação de íons após tratamento entre os

diferentes grupos foram estatisticamente significantes ($p < 0,025$). Houve maior liberação de íons de cálcio e fósforo na maior concentração de peróxido de hidrogênio devido ao processo de desmineralização e, houve uma diminuição da microdureza Vickers depois do clareamento dental

Attin et al.³² (2007) avaliaram vários protocolos para devolver a dureza superficial após clareamento dental com flúor e fluoreto de sódio. Foram utilizados 90 dentes incisivos bovinos lixados com lixa 800, 1000, 1200, 2400 com uma remoção de esmalte de 200 μm , divididos em dois tratamentos, sendo o primeiro tratamento de 1 a 7 dias com um processo de remineralização e um segundo tratamento de 8 a 12 dias também com processo de remineralização, divididos em 5 grupos : Grupo A - Peróxido de Carbamida (PC) com flúor pH= 7,0; Grupo B – PC com flúor pH= 5,5; Grupo C - PC sem flúor pH= 7,0 e Grupo D - PC sem flúor pH= 5,5. Para avaliação dos efeitos na superfície do esmalte foi feita microdureza Knoop com cinco indentações com uma carga de 1.961 N em 15 segundos. Os dados foram transformados em porcentagens, com uma distribuição normal verificada com teste de Kolmogorov-Smirnov e ANOVA de dois critérios. O resultado demonstrou diminuição entre 7 a 15 % da dureza superficial nos valores iniciais, e foi restituído no grupo A aos 8 dias, no grupo B aos 9 dias, no grupo C aos 10 dias e no grupo D que utilizou um gel acidulado sem flúor, pode-se dizer que não voltou aos valores iniciais. Concluiu-se que o uso de gel não acidulado e flúor diminuiriam os efeitos na dureza superficial, já que o condicionamento ácido permitiu o ingresso de flúor com maior facilidade.

Da Costa e Mazur³³ (2007) avaliaram o efeito de novas fórmulas de agentes clareadores com aplicação de flúor sobre a microdureza do esmalte. Foram utilizados 60 molares intactos utilizando a metade vestibular, polida até lixa 4000 mantidos em saliva artificial e dividido em seis grupos ($n=10$): Grupo A - Opalescence; Grupo B - Opalescence PF (Nitrato de potássio 3% e Flúor 0,11%); Grupo C Nite White Excel 3; Grupo D - Opalescence + F (flúor acidulado 1,23%); Grupo E - Opalescence PF + F e Grupo F - Nite White Excel 3 + F. Foi realizado o clareamento dental durante 8 horas por 21 dias e os grupos D, E e F receberam flúor acidulado 1,23% por 5 minutos. Foi realizado a microdureza Knoop (4 indentações) com uma carga de 100 g por 20 s, aos 14, 21 e 35 dias depois do clareamento. Os dados entre os agentes clareadores foram analisados com ANOVA e teste de Tukey

e os dados entre intervalos de tempo foram analisados com ANOVA de um critério e teste de Tukey. Os resultados demonstraram uma diminuição da microdureza Knoop após clareamento, mas houve melhor recuperação com a utilização de flúor depois de duas semanas.

Ulukapi ³⁴ (2007) avaliou os efeitos na microdureza Vickers (500 g a 10 s e três indentações) em 40 espécimes de esmalte de terceiros molares (3 mm x 3 mm x 3 mm) lixados com lixa 600 e polidos com pasta diamantada, divididos em quatro grupos (n=10): Grupo 1 - controle; Grupo 2 - peróxido de carbamida 10% de uso caseiro; Grupo 3 - peróxido de hidrogênio 35% em consultório e Grupo 4 - ácido hidrocloreídico 18% realizando microabrasão 1, 2, 3 e 7 dias. Após os tratamentos os espécimes foram armazenados em saliva artificial durante 72 horas. Os dados foram analisados com teste T pareado. Os resultados demonstraram que o tratamento caseiro não alterou a dureza superficial; já, os tratamentos de microabrasão e de consultório após 24 horas apresentaram uma diminuição da dureza superficial, porém após 72 horas ocorreu uma remineralização. O aumento da erosão do esmalte nas primeiras 24 horas facilitou a troca de íons presente na saliva artificial o que proporcionou a remineralização em 72 horas.

Wiegand et al.³⁵ (2007) avaliaram os efeitos de pastas de dentes fluoretada e gel de flúor em diferentes tempos depois do tratamento de clareamento dental. Foram utilizados 90 dentes incisivos bovinos divididos em 9 grupos (A-I) lixados com lixa 500 a 4000, removido 200 µm da superfície de esmalte, sendo na metade realizado o clareamento dental com peróxido de carbamida 10% durante 14 dias e a outra metade serviu como controle. Do grupo A-H foi utilizado pastas de dente fluoretada e gel fluoretado em diferentes tempos do experimento que foi de 0 a 42 dias. Foi mensurado a microdureza Knoop antes e depois de 14, 28 e 42 dias do clareamento dental. Os dados foram analisados com teste ANOVA de três critérios e a diferença entre os grupos experimentais e o grupo controle foi verificada por teste T. Observou-se que a microdureza teve diminuição depois do clareamento dental, mas a utilização de pastas de dente fluoretada aumentou a microdureza e o uso de gel fluoretado não teve nenhum efeito sobre a microdureza.

Chen et al.³⁶ (2008) observaram o efeito do clareamento dental sobre a dureza superficial e rugosidade do esmalte, utilizando géis clareadores fluoretados e tratamento com flúor. Foram utilizados 40 espécimes de incisivos bovinos lixados com lixa 600 a 1000, polidos com pasta ½ diamantada, obtidos da superfície vestibular (5 mm x 5 mm) os quais foram divididos em 5 grupos: grupo 1 - (controle) não foi feito nenhum procedimento; grupo 2 - clareamento com Opalescence 10% livre de flúor; grupo 3 - clareamento com Opalescence 10% com utilização de fluoreto de sódio 2% de uso tópico; grupo 4 - clareamento com Opalescence PF 10%, o qual tem flúor 0,11% e grupo 5 - clareamento experimental que apresentava peróxido de carbamida 10% com flúor 0,37%. Foi feito a mensuração da microdureza Knoop em três tempos (antes, 7 e 14 dias) com uma carga de 50 g/5 s. Em três amostras de cada grupo foi realizada a aferição da rugosidade no 14º dia. Os dados foram analisados com ANOVA e teste post- hoc e teste t. A microdureza foi analisada no 7º dia apresentando diminuição significativa comparada com o grupo 1, os grupos 2 e 3 tiveram menor diminuição que os grupos 4 e 5. A microdureza foi recuperada no 21º dia nos grupos 2 e 3 depois de duas semanas mas, mostraram alterações na superfície do esmalte com aparência de erosão. Os outros grupos não apresentaram modificações na superfície. Concluiu-se que os géis fluoretados diminuíram os efeitos na rugosidade e dureza superficial. Os autores argumentaram que o flúor fez uma camada de fluoreto de cálcio que remineralizou e aumentou a resistência a condicionamentos ácidos.

Faraoni-Romano et al.³⁷ (2008) observaram os efeitos sobre a rugosidade (Ra) e sobre a microdureza do esmalte e da dentina depois da utilização de agentes clareadores de alta e baixa concentração. Utilizaram 100 blocos (4 mm x 4 mm x 2 mm) de esmalte de dentes incisivos bovinos, lixados com lixas decrescentes até 1200, polidos com pasta de polimento de 0,3 e 0,005 µm, divididos nos seguintes grupos: G1 - Peróxido de carbamida 10% (CP10); G2 - Peróxido de hidrogênio 7,5% (HP7,5); G3 - Peróxido de hidrogênio 38% (HP38); G4 - Peróxido de hidrogênio 18% (HP18) e G5 - Peróxido de carbamida 22% (CP22). Os blocos foram submetidos a microdureza Knoop em esmalte a uma carga de 25 g e em dentina a 10 g. Foram realizadas cinco indentações a 20 s, espaçadas a 500 µm. A rugosidade superficial foi mensurada no perfilômetro com um diamante Stylus a 2 µm de diâmetro, na superfície de 0,1 mm/s com uma velocidade constante de

0,7 mN/F. Os dados antes e após o clareamento dental foram analisados com teste ANOVA e teste de Tukey e quando apresentavam diferenças significativas entre pares utilizou-se teste t. Os autores concluíram que em dentina os agentes clareadores, variando a concentração, causaram diminuição da microdureza e aumento do Ra, argumentando que a dentina é muito mais suscetível ao pH mais baixo dos agentes clareadores que o esmalte.

Mielczarek et al.³⁸ (2008) compararam as modificações na superfície do esmalte depois do clareamento dental com três diferentes sistemas. Foram utilizados 24 blocos (3 mm x 4 mm) de esmalte oriundos de pré-molares humanos, divididos em 4 grupos: G1 - grupo controle, durante 21 dias as amostras foram submetidas a dentifrícios duas vezes por dia (Crest Caviti Protection); G2 - peróxido de hidrogênio 14% (Crest Whitestrips Supreme), durante 21 dias as amostras foram tratadas quatro vezes por dia com o agente clareador e exposto a dentifrícios (Crest Caviti Protection); G3 - peróxido de hidrogênio 20% (Opalescence PF gel) durante os 1°-14° dias sendo as amostras expostas a dentifrícios (Crest Caviti Protection) aos 14°-21° dias foi feita aplicação por 6 horas diárias do clareamento e G4 - peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence XTra Boost) durante os 10°-20° dias foram expostas a dentifrícios (Crest Caviti Protection) no 21° dia foi exposto ao clareamento 3 vezes de 15 minutos. Foi verificada as mensurações de microdureza Vickers (carga de 200 g/10 s realizando 5 indentações), rugosidade e cor antes e após os tratamentos. As alterações de microdureza, rugosidade e cor foram analisadas com teste t de Student e ANOVA. Os resultados mostraram que a utilização dos agentes clareadores não teve efeito sobre a dureza superficial comparado com o grupo controle e não houve alterações na superfície. Os autores argumentam que as controvérsias sobre as alterações ocasionadas pelos agentes clareadores devem-se a falta de padronização dos estudos em suas metodologias.

Polydorou et al.³⁹ (2008) avaliaram o efeito sobre a microdureza de três sistemas diferentes de clareamentos. Foram utilizados 36 terceiros molares divididos em três grupos: Grupo A - peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence XTra Boost); Grupo B - peróxido de hidrogênio 30% (Easywhite Ready) utilizando lâmpada de plasma e Grupo C - peróxido de hidrogênio 25% (sistema Zoom2), sendo o clareamento realizado em ciclos de 15 minutos. Foi avaliada a microdureza dos dentes antes e após o tratamento. A microdureza Knoop foi realizada com uma

carga de 0,981 N sendo feitas 5 indentações. Os dados de microdureza foram analisados com ANOVA e Kruskal-Wallis com um nível de significância de $p=0,05$. Os resultados mostraram aumento da microdureza após o tratamento. Os autores atribuem o aumento da microdureza a composição dos agentes clareadores.

Borges et al.⁴⁰ (2009) avaliaram os efeitos da adição de flúor e cálcio no gel clareador. Utilizaram vinte terceiros molares lixados em lixa 600, 1200, 2400, divididos em 4 grupos : Grupo 1 - não recebeu nenhum procedimento (controle); Grupo 2 - gel clareador de peróxido de hidrogênio 35% (Total Bleach- CleanLine); Grupo 3 -Total Bleach CleanLine com adição de fluoreto de sódio 0,2% e o Grupo 4 - Total Bleach CleanLine com adição de cálcio 0,2%. O pH do gel clareador foi mensurado com Digimed DM-20 (Digicrom Analítica Ltda) com um eletrodo DME-CV8, demonstrando um pH 6,15 para os géis modificados e, um pH 6,48 para gel clareador de peróxido de hidrogênio 35%. Os agentes clareadores foram aplicados por ciclos de 10 minutos três vezes ao dia segundo o fabricante. Foram realizadas três indentações com uma distância de 100 μ m para a microdureza Vickers com uma carga de 50 g a 10 s. A análise estatística foi feita com ANOVA um critério e teste de Tukey. Os resultados mostraram que os valores de microdureza diminuíram depois do clareamento com peróxido de hidrogênio 35%, mais quando foi utilizado flúor ou cálcio houve um aumento significativo dos valores de microdureza. Atribuem os efeitos sobre o esmalte do peróxido de hidrogênio na matriz orgânica pelo processo de oxidação reforçado pelo baixo pH.

Gomes et al.⁴¹ (2009) fizeram avaliação dos efeitos do peróxido de hidrogênio 35% e peróxido de hidrogênio 15% associado com a luz. Utilizaram 36 dentes bovinos que foram lixados com lixa 600 a 4000 de granulação divididos em 4 grupos: G1 - Peróxido de Hidrogênio 15% [BriteSmile(BL)] com luz; G2 - Peróxido de Hidrogênio 15% [BriteSmile (BN)] sem luz; G3 - Peróxido de Hidrogênio 35% [PolaOffice(PL)] com luz e G4 - Peróxido de Hidrogênio 35% [PolaOffice(PN)] sem luz. Em seguida, foi realizada a microdureza Knopp sendo 5 indentações com distância de 300 μ m com 200 g de carga por 15 s. Os dados foram analisados com ANOVA e teste T. Concluíram que não houve diferença significativa entre os grupos com a utilização de luz.

Sasaki et al.⁴² (2009) avaliaram os efeitos de peróxido de carbamida 10% e peróxido de hidrogênio 7,5% sobre a microdureza superficial e micromorfologia do esmalte. Utilizaram 30 blocos de esmalte de terceiros molares, sendo a área de trabalho a superfície vestibular com fragmentos de 9 mm² (3 mm X 3 mm), os quais foram lixados de forma decrescente de 600 – 1200 e polidos com pasta diamantada 6, 3, ½ e 1/4. Os espécimes de esmalte foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: Grupo 1- Controle; Grupo 2 - Day White (Peróxido de Hidrogênio 7,5%) e Grupo 3 - Platinum Colgate (Peróxido de Carbamida 10%), sendo realizado o clareamento seguindo as indicações do fabricante, ou seja, 1 hora diária por 21 dias e as outras 23 horas os espécimes eram mantidos em 13,5 mL de saliva artificial trocada a cada dois dias. A microdureza Knoop foi realizada com três indentações com uma carga de 25 g a 5 s antes do tratamento e após 21 e 35 dias. Também foi realizada análise ao MEV onde avaliaram a presença ou não de erosão. Os dados foram analisados com ANOVA e teste de Tukey. Observou-se que as médias de microdureza aos 21 dias de clareamento mantiveram-se semelhantes, no entanto, depois de 14 dias a partir do final do tratamento houve um aumento da microdureza para o Peróxido de Carbamida 10% e para o Peróxido de Hidrogênio 7,5% não ocorrendo diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. Ao MEV foi observado diferenças significativas entre as análises dos espécimes tratados com clareamento e os não tratados, sendo que o grupo controle apresentou 20% de erosão, o grupo Day White 50% e grupo Platinum Colgate 80%. Concluíram que os tratamentos avaliados apresentaram efeitos na micromorfologia do esmalte, argumentando que a presença de erosões e porosidades na superfície de esmalte estão relacionadas aos subprodutos do processo de oxidação principalmente uréia e oxigênio, os quais apresentam propriedades de desnaturação das proteínas.

Abouassi et al.⁴³ (2010) avaliaram o efeito sobre a micromorfologia e microdureza depois do clareamento dental com peróxido de carbamida 10% e 35% e peróxido de hidrogênio 3,6% e 10%, em 50 blocos de esmalte divididos em 5 grupos (n=10): Grupo 1 - Peróxido de carbamida 10%; Grupo 2 - Peróxido de carbamida 35%; Grupo 3 - Peróxido de hidrogênio 3,6%; Grupo 4- Peróxido de hidrogênio 10% e Grupo 5 - Grupo Controle - sem agente clareador. As amostras foram lixadas de 1200 a 4000 e polidas com pasta de polimento de 0,1 µm. Foi avaliada a rugosidade

com microscopia de força atômica a uma varredura de 0,7 mm X 0,7 mm para cada amostra, em três pontos diferentes do bloco. Os dados avaliados foram: Ra - mensura a média da rugosidade feita a varredura, Rt e Ry - profundidade da rugosidade máxima, que é a distancia entre o ponto mais baixo e mais alto da região estudada. As análises foram feitas antes e após o procedimento de clareamento dental, sendo designado um bloco por cada grupo para ser feito a microdureza Knoop a uma carga de 1,030 mN a 30 s. A rugosidade foi analisada com covariância e a comparação dos grupos com o grupo controle foi feito com CHI quadrado e múltiplas comparações com Dunnett-Hsu. Com os resultados obtidos, pode-se observar que o peróxido de hidrogênio 10% aumentou a rugosidade em comparação ao grupo controle; já, o peróxido de carbamida 35% só demonstrou uma tendência no aumento da rugosidade.

Borges et al.⁴⁴ (2010) avaliaram a influência do pH do agente clareador na dureza superficial e o efeito de remineralização. Foram utilizados 70 dentes incisivos bovinos, lixados de forma decrescente de 600 -1200, divididos em três grupos: Grupo 1 - sem clareamento; Grupo 2 - peróxido de hidrogênio 35% (Bleach total) com gel neutro; Grupo 3 - peróxido de hidrogênio 35% (Fórmula & Ação) com gel ácido. Os grupos 2 e 3 (n=60) foram subdivididos em 3 grupos (n=10), onde após o clareamento foi aplicado a um grupo flúor, outro grupo uma combinação de flúor e cálcio e sem nenhum remineralizante (controle). Foi realizado microdureza Vickers com uma carga de 50 g a 10 s, três indentações com uma distância entre elas de 100 mm, após 7, 15 e 30 dias do clareamento. Os dados foram analisados com ANOVA três critérios e medidas repetidas e teste de Tukey. Os resultados demonstraram uma diminuição da dureza superficial após clareamento em todos os grupos, ocorrendo maior diminuição da microdureza com gel ácido e, melhora na dureza com remineralizantes e gel neutro de flúor.

Mahmoud et al.⁴⁵ (2010) avaliaram o efeito do gel de peróxido de carbamida 16% na micromorfologia da superfície e rugosidade do esmalte e dentina radicular, por meio de microscopia de força atômica (AFM). Utilizaram vinte molares, sendo 10 molares de indivíduos saudáveis e 10 molares de indivíduos urêmicos. Foram realizados blocos de esmalte (3 mm x 2 mm x 2mm) a partir da superfície vestibular, lixados até lixa 2500 de carbetto de silício. De cada um dos grupos, a

metade (n=5) foi submetida ao clareamento dental com peróxido de carbamida 16%, a outra metade foi armazenada em saliva artificial, para depois de 8 horas do clareamento e 14 dias após fosse realizada análise ao AFM, com uma velocidade de 1Hz, em uma área de 25 μm^2 . Os dados foram analisados com ANOVA um critério e pós teste de Bonferroni para múltiplas comparações. Os resultados demonstraram maiores irregularidades em esmalte de indivíduos saudáveis que urêmicos submetidos ao clareamento dental e em dentina maior tipo de erosão em amostras de pacientes saudáveis que urêmicos submetidos ao clareamento dental, isto pode ser explicado no fato que o esmalte de pacientes urêmicos apresentam um esmalte mais resistente a desmineralização devido que o tipo de pacientes tem uma saliva mais alcalina por causa da alta concentração de amônia e o aumento de fósforo e cálcio na dieta.

Ferreira et al.⁴⁶ (2011) avaliaram qualitativamente a morfologia da superfície do esmalte depois do clareamento com peróxido de hidrogênio 35% seguido da aplicação de flúor. Foram utilizados 40 pré-molares extraídos por razões ortodônticas, onde foi separado a superfície vestibular da superfície lingual, distribuídas aleatoriamente em 4 grupos: Grupo I - (controle) não foi feito nenhum tratamento e foi mantido em saliva artificial com pH 6,8; Grupo II - aplicado peróxido de hidrogênio 35%, ativado com Luz (Brilho LED/LASER, Kondortech Equipamento Odontológico Ltda, São Carlos-SP-Brasil); Grupo III, peróxido de hidrogênio 35% com aplicação de flúor 1,23% acidulado e Grupo IV- peróxido de hidrogênio 35% com aplicação de flúor neutro 2%. O procedimento de clareamento foi realizado três vezes em todos os grupos e em seguida, um polimento com pasta e discos de feltro (Diamond Excel, FGM Produtos Odontológicos, Joinville SC, Brasil). O flúor correspondente foi aplicado com *microbrush* permanecendo em contacto por 1 minuto e removido com gaze, sendo o procedimento repetido aos 7 dias e 14 dias. A morfologia da superfície foi avaliada em MEV por meio de escore: 0 = com esmalte liso; 1 = pequenas irregularidades; 2 = irregularidades moderadas e 3 = irregularidades acentuadas. Os resultados foram avaliados por teste não paramétrico de Kruskal Wallis (nível de significância 5%), seguida por comparações repetidas pelo pós Teste de Dunn. O peróxido de hidrogênio 35% produziu porosidades, depressões e irregularidades da superfície do esmalte, sendo

significativamente maiores quando foi utilizado o flúor acidulado 1,23%. Os autores atribuem os resultados aos baixo pH do flúor acidulado.

Pedreira et al.⁴⁷ (2011) avaliaram os efeitos na superfície e rugosidade do esmalte após clareamento com peróxido de hidrogênio 38%. Foram utilizados 18 incisivos superiores realizando uma varredura com microscopia de força atômica, a uma velocidade de 1 Hz. Em seguida, foi feito o procedimento de clareamento com peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Boost PF) por 15 minutos sem aplicação de fonte de luz, sendo repetido 9 vezes o procedimento, depois novamente foi realizada uma varredura com microscopia de força atômica. Metade dos espécimes (n=9) receberam a aplicação durante 4 min de flúor gel neutro 2% e a outra metade (n=9) foram polidos com uma pasta com conteúdo de nanohidroxiapatita. Em seguida, foi feita novamente microscopia de força atômica. Os dados foram analisados com ANOVA e teste de Tukey. Os autores concluíram que o clareamento com peróxido de hidrogênio 38% não teve efeito na rugosidade do esmalte.

Sun et al.⁴⁸ (2011) avaliaram o efeito do gel de peróxido de hidrogênio 30% ácido e neutro na estrutura química, física e superficial do esmalte. Foram utilizados 27 pré-molares sendo feito blocos de esmalte (3 mm x 4 mm x 4 mm) lixados com lixa 600 a 3000 e polidos com pasta para polimento de 0,5 micros. Os blocos foram divididos em três grupos: Grupo ácido HP (n=9) imersos em 4 mL de peróxidos de hidrogênio 30% (pH 3,6) durante 4 horas; Grupo neutro HP (n=9) imersos em 4 mL de peróxido de hidrogênio 35% (pH 7,0) durante 4 horas e Grupo PW (n=9) imerso com 4 mL de peróxido de hidrogênio 35% (pH 6,8). As soluções foram trocadas a cada hora. Foi feito F-TIR utilizando espectro com infravermelho na faixa de 650 – 4000 cm^{-1} e Raman com espectro em três pontos na faixa de 0 – 3200 cm^{-1} , e levados os picos integrados no programa Origem 8. Também foi realizada Microscopia de Força Atômica (MFA) em 3 blocos, de cada grupo, sendo 5 varreduras de 10 mm X 10 mm em 5 áreas diferentes. Para a microdureza Vickers foi realizada 5 indentações com uma carga de 200 g/15 s. A estatística foi feita com o programa SPSS 16.0, sendo os percentuais analisados com ANOVA um critério e teste de Tukey, e as diferenças foram analisadas com ANOVA dois critérios. O grupo ácido HP apresentou grandes mudanças no cálcio avaliado com F-TIR e com Raman houve diferenças significativas no RRI (Raman Relativo Intensivo) e,

aumento na rugosidade avaliada com MFA e também nos valores de microdureza Vickers após o clareamento. Os autores concluíram que o grupo neutro HP não apresentou nenhuma mudança física, química e estrutural após o clareamento diferente do grupo ácido HP.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Proposição geral

Avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio 35% e 38% no esmalte após o clareamento associado ao flúor.

3.2. Proposição específica

- 1.** Avaliar os efeitos na nanodureza do esmalte após o clareamento associado ao flúor.
- 2.** Avaliar os efeitos na micromorfologia do esmalte após o clareamento associado ao flúor por meio de Microscopia de Força Atômica e Microscopia Eletrônica de Varredura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos dentes

Foram usados vinte e dois terceiros molares humanos hígidos obtidos por meio do Banco de Dentes Humanos (BHD) da UEPG, aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa COEP-UEPG, tendo sido protocolado sob o número 14041/01 (Anexo).

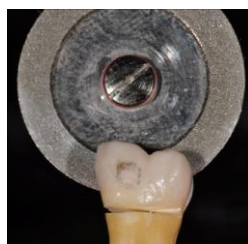
Os dentes foram limpos com curetas periodontais (Duflex, SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e armazenados em solução aquosa de tymol 2% durante 24 horas.

4.2 Preparo dos dentes

Foram feitos cortes, no sentido transversal, perpendicular ao longo eixo do dente, na junção cimento/esmalte para eliminação da raiz de cada dente, sendo posteriormente realizado outro corte no sentido méso-distal, paralelo ao longo eixo do dente, com auxílio de um disco de diamante (#7020, KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), montado em uma máquina de corte Isomet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) a uma velocidade de 350 rpm (rotações por minuto) sob constante refrigeração com água para dividir as coroas em duas metades, ou seja, vestibular e lingual, de onde foram removidos blocos de 3 x 3 x 3 mm totalizando 43 blocos de esmalte (Figura 1).



A



B



C

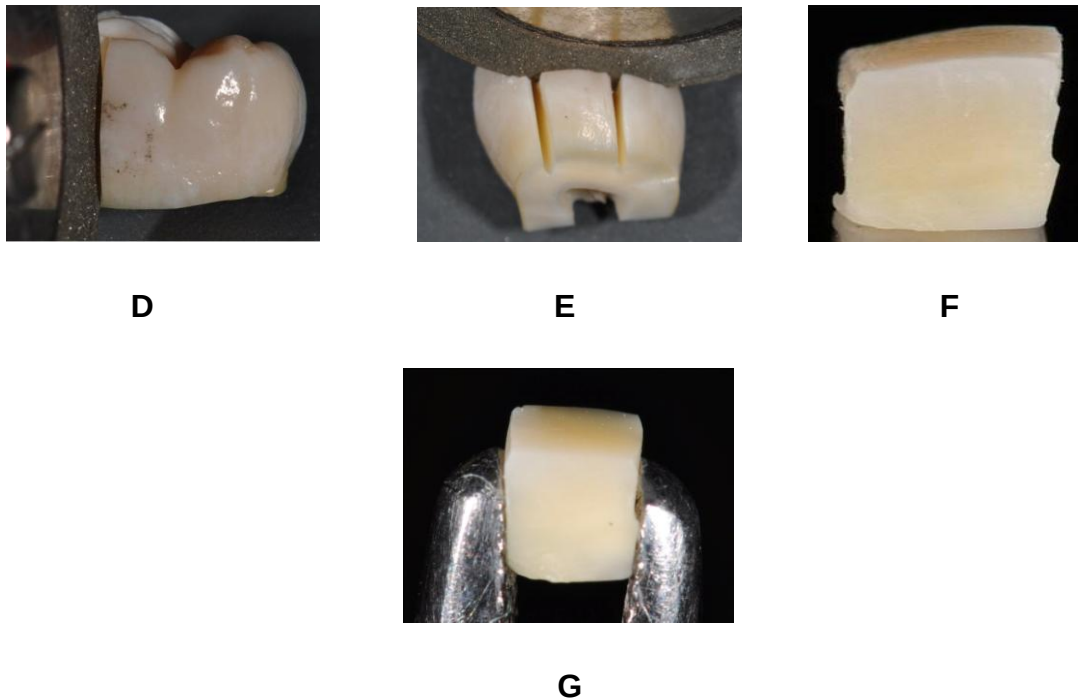


Figura 1 Passo a passo para obtenção dos blocos de esmalte. A – Corte da raiz, B- Corte de mesial a distal, C – Corte de mesial a distal vista lateral, D- Desenho do quadro para o corte na face vestibular, E e F- Corte do bloco e G –Visão aproximada do bloco.

4.3 Preparo das amostras

Após a obtenção os blocos foram embutidos em tubos de PVC (policloreto de vinila), os quais foram preenchidos com polimetilmetacrilato por meio da incorporação de 1 mm de resina acrílica Duralay (Reliance, Dental Mfg. Co., Worth, IL, EUA), deixando a superfície do esmalte exposta. A superfícies de esmalte exposta foram posteriormente planificadas com lixas de papel de carbetto de sílcio progressivamente com granulação 600, 1000, 1400, 2000 e polidas com pasta diamantada com tamanho de partículas de 0,03 e 0,05 μm , em uma máquina politriz Aropol S (Arotec, Cotia, SP, Brasil) em 300 rpm. Em seguida, as amostras foram limpas em cuba ultrassônica por 30 min contendo água destilada e armazenadas em saliva artificial por 48 horas a 37 °C.

Posteriormente, as amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos: Grupo C - nenhum tratamento clareador (controle); Grupo HPF – clareamento com peróxido de hidrogênio 35% + Flúor (Whiteness HP MAX) e Grupo OP - clareamento

com peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Boost PF), demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 – Grupos de estudo

Grupos de Estudo	Tratamento	Material Utilizado
Grupo C	nenhum tratamento clareador (controle)	
Grupo HPF	clareamento com peróxido de hidrogênio 35% + Flúor	(Whiteness HP MAX)
Grupo OP	clareamento com peróxido de hidrogênio 38%	(Opalescence Boost PF)

Fonte: Do autor

4.3.1 Tratamento clareador

A composição dos materiais utilizados bem como o protocolo para o procedimento de clareamento dental estão especificados no Quadro 2.

Quadro 2 – Materiais utilizados no estudo, fabricante, protocolo de uso, composição e lote

Material	Fabricante	Protocolo	Composição *	Lote
Whiteness HP Maxx (Grupo HPF) 	FGM- Joinville- Santa Catarina Brasil	Três aplicações de 15 min, repetindo o procedimento três vezes + aplicação de flúor por 5 min diários por 14 dias	Peróxido de hidrogênio 30-35%	0102201 1
Opalescence Boost PF (Grupo OP) 	Ultradent Products Inc., Salt Lake City, Utah, USA	Três aplicações de 15 min, repetindo o procedimento três vezes	Peróxido de hidrogênio 38%, Hidróxido de potássio 10-20%, Fluoreto de sódio 5-10%, Nitrato de potássio 15-25%	B59X7
Saliva Artificial 	Farmácia de manipulação Eficácia, Ponta Grossa – Paraná Brasil	Armazenamento das amostras depois dos procedimentos de clareamento	Benzoato 1g; CMC 10 g; Cloreto de magnésio 0,05 g; Cloreto de Potássio 0,62 g	-----
Flúor 			Cloreto de sódio 0,025 g; Sorbitol 42,74 g, Água destilada 944,53mL; Fosfato e potássio 0,8035 g; Potássio fosfato monobásico 0,326 g	-----

Fonte: Do autor

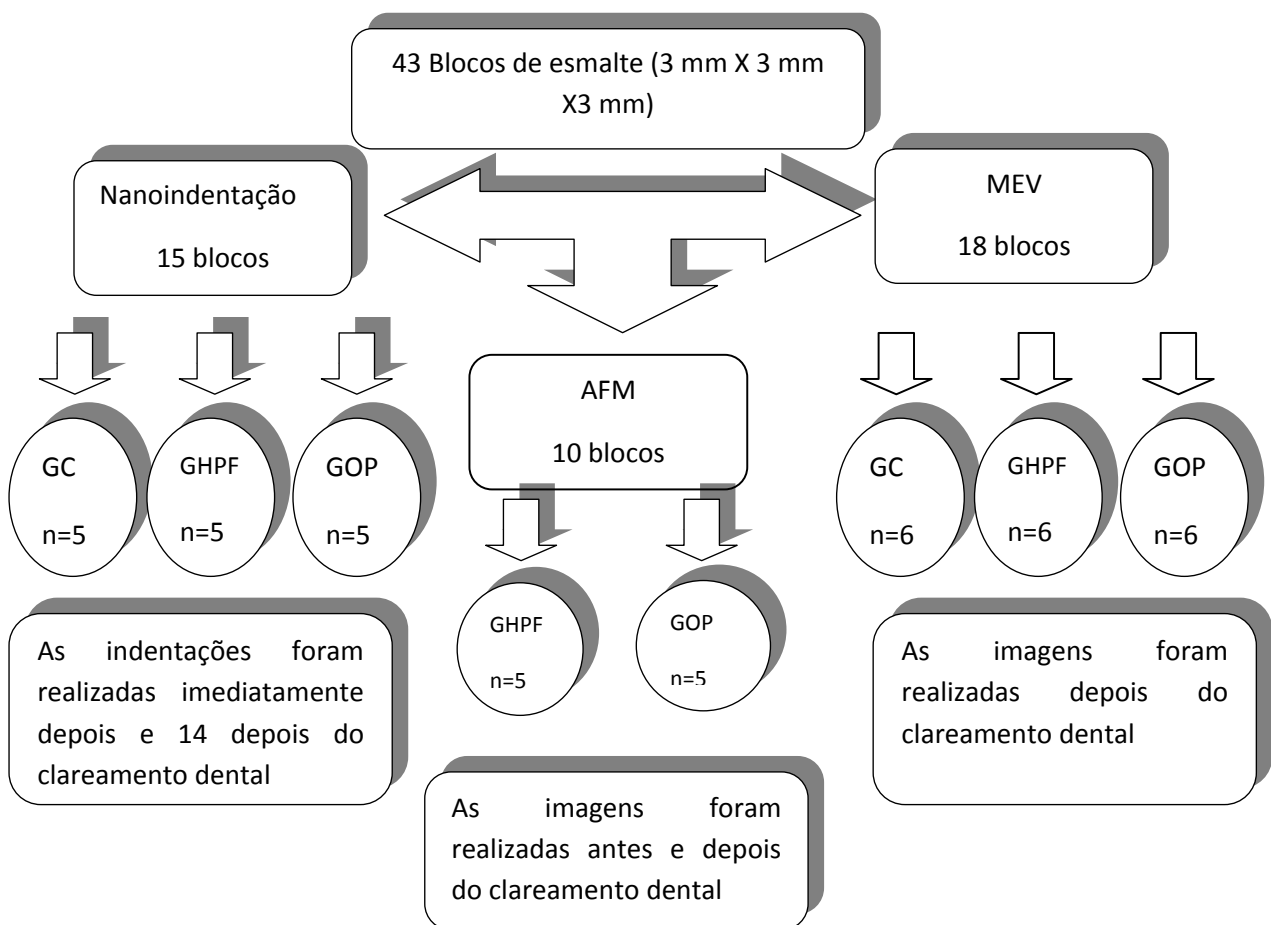
Nota: *De acordo com os fabricantes

O grupo C (controle) não recebeu nenhum tratamento clareador. As demais amostras foram tratadas, segundo o protocolo do fabricante dos agentes clareadores (Quadro 2), sendo no grupo HPF após o procedimento do tratamento clareador realizada uma aplicação tópica de flúor neutro (FNa 1,23%) por 5 minutos com auxílio de um cotonete de algodão, durante 14 dias consecutivos. O flúor era removido com água deionizada com auxílio de uma seringa descartável e as amostras armazenadas em saliva artificial (Quadro 2) a 37 °C durante as aplicações do procedimento clareador. No grupo OP após os ciclos de clareamento dental as

amostras foram lavadas com água deionizada, limpas e armazenadas em saliva artificial (Quadro 2) a 37 °C durante 24 horas.

Após o tratamento clareador, as amostras foram divididas aleatoriamente em três metodologias: Nanoindentação (n=15), Microscopia de Força Atômica (n=10) e Microscopia Eletrônica de Varredura (n=18) demonstrado no Fluxograma 1.

Fluxograma 1 – Distribuição das metodologias de acordo com os grupos de estudo



4.4 Ensaios de nanoindentação

O teste de nanoindentação (Kerebel et al.⁴⁹ 1979, Cuy et al.⁵⁰ 2002)) foi realizado com Nano Indente® XP (MTS System Corp, Oak Ridge, MN, EUA), localizado no Laboratório de Propriedades Nanomecânicas da Universidade Federal de Paraná.

Foi realizado imediatamente após e 14 dias depois da aplicação do clareamento dental, de acordo com o protocolo de Huja et al.⁵¹ (2006), sendo o teste realizado, em 15 amostras, com uma ponta Berkovich de base piramidal, com uma força de carga aplicada controlada de 20 mN a uma velocidade de 10 nm/s, em temperatura ambiente ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). O tempo utilizado durante o ciclo de indentação tanto para o carregamento, quanto para o descarregamento de carga, foi de 15 s até alcançar 500 nm. Entre o ciclo de carregamento e descarregamento a carga foi mantida constante por um período de 4 s. Cada amostra ($n=5$) foi submetida a 6 indentações, segundo Bao et al.⁵² (2006), determinando os valores de dureza e módulo de elasticidade, Hairul et al.⁵³ (2002). Estas indentações foram realizadas no meio do bloco, ficando entre as indentações 2 mm. (Figura 1 G.).....O cálculo da dureza e módulo de elasticidade foi realizado de acordo com a fórmula proposta por Oliver e Pharr⁵⁴ (1992) (Dureza = H e Módulo de elasticidade do esmalte = E):

$$H = P_{\max} / A_c \quad \text{onde:}$$

$P_{\max}$ é carga máxima

A_c é área de contato

4.5 Microscopia de Força Atômica

Foram selecionadas dez amostras para a análise em Microscopia de Força Atômica (AFM). As amostras foram mantidas em uma posição vertical e o sistema operou com intensidade da força ponta-superfície constante durante aquisição das imagens. Este estudo foi feito com modo de contato, ou seja, o sistema de realimentação manteve a distância ponta-superfície constante tal que, a força de interação entre elas era repulsiva. Nesse modo de operação, utilizaram-se sondas de constantes elásticas baixas (0.01N/m a 1.0N/m) de Nitreto de Silício. As imagens foram coletadas com um índice de 1Hz, para obter informações da estrutura do esmalte e evitar danos à ponta, em uma área de $20,0 \mu\text{m}^2$ a uma velocidade de 80 $\mu\text{m/s}$, antes e após o procedimento de clareamento dental. Foi realizada três varreduras em cada bloco, em áreas previamente demarcadas, para obtenção dos valores da rugosidade do esmalte (μm) antes e após o clareamento dental.

Os parâmetros de avaliação de rugosidade antes e após os protocolos de clareamento dental foram: I - Rugosidade Média (R_a) e II – Distância Média (R_z).

I - Rugosidade Média (R_a) - É a média aritmética dos valores absolutos das ordenadas de afastamento dos pontos do perfil de rugosidade em relação à linha média, dentro do percurso de medição (Figura 2), pode ser calculada pela equação.

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |f(x)| dx \quad \text{onde:}$$

R_a representa média aritmética

L representa comprimento

$|f(x)| dx$ representa comprimento de referência.

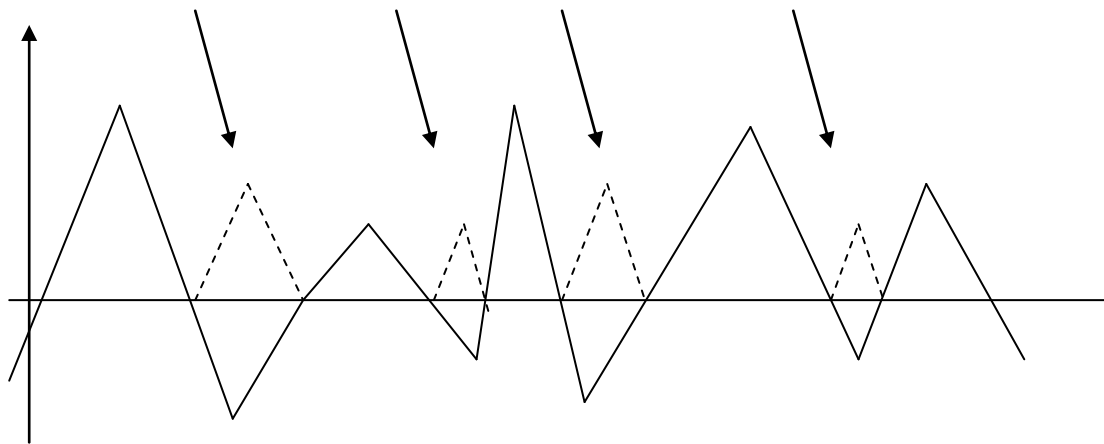


Figura 2 - Desenho esquemático representativo da Rugosidade Média (R_a)

II- Distância média (R_z)

É a distância média entre cinco pontos dos valores da rugosidade parcial Z_1 . A rugosidade parcial Z_1 é definida como a soma dos valores absolutos das ordenadas dos pontos de maior afastamento (acima e abaixo da linha média) existente dentro de um comprimento de medição, graficamente, este valor representa a altura entre os pontos Máximo e Mínimo do perfil, dentro do comprimento de medição (Figura 3).

$$R_z = \frac{Z_1 + Z_2 + Z_3 + Z_4 + Z_5}{5}$$

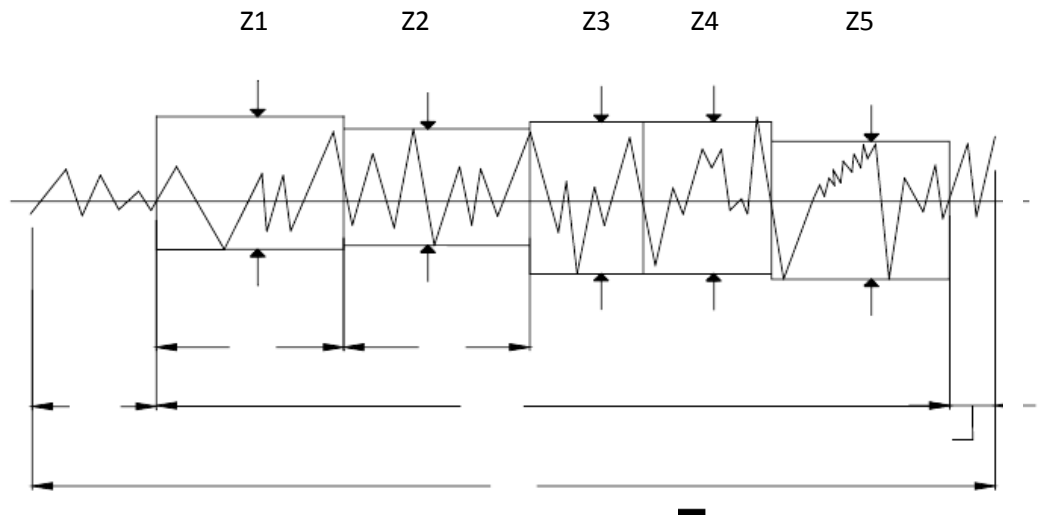


Figura 3- Desenho esquemático representativo da distância média (R_z)

4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

Após os procedimentos de clareamento, em dezoito amostras, foi realizada a observação em Microscopia Eletrônica de Varredura (Sputter Coater IC 50; Shimadzu). Sendo feita a metalização da superfície das amostras, com uma camada de 10 nm de ouro-paládio por meio do Metalizador (Shimadzu, Kyoto, Japão) e, as observações realizadas com uma resolução de 5000 X, a uma velocidade de 15Kv. As fotomicrografias foram realizadas 14 dias após o procedimento de clareamento dental, na região central do bloco de esmalte. A análise das imagens foram feitas por três avaliadores previamente calibrados (com as imagens das provas pilotos) determinando o tipo de superfície apresentada por meio de critérios qualitativos de acordo com a presença ou ausência de erosão e/ou alterações na superfície do esmalte (Sasaki et al.⁴² 2009) (Quadro 3).

Quadro 3- Avaliação qualitativa das imagens ao MEV

Presença de Erosão	Ausência de Erosão
Presença de superfície com porosidades e/ou erosões variando de leves a graves, sugerindo alterações de superfície de esmalte, com aspecto não uniforme.	Ausência de porosidades e/ou erosões superficiais, sugerindo ausência de alterações da superfície do esmalte com aspecto superficial uniforme

Fonte: Sasaki et al.⁴² 2009

4.7 Análise estatística

Os dados de nanodureza e módulo de elasticidade tiveram uma distribuição normal validada por teste de normalidade D'Agostino e ANOVA de um fator com teste de Tukey com nível de significância adotado de $\alpha=0,05$. Os dados do AFM foram dados em Ra e Rz e foi calculada como percentual do Ra e Rz inicial realizado ANOVA com pós- teste de Tukey nível de significância adotado de $\alpha=0,05$. Os cálculos também foram realizados por meio do software estatístico BioEstat versão 5.0 (Statistic program for Windows, Belém- PA- Brasil).

Os dados do MEV foram transformados em porcentagens.

5 RESULTADOS

5.1- Nanodureza

Os valores da média e desvio padrão de nanodureza (GPa) e do módulo de elasticidade (GPa) estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1- Valor médio e desvio padrão de nanodureza (GPa) e do módulo de elasticidade do esmalte (GPa) imediato e 14 dias após o clareamento dental

Grupos	(n)	Nanodureza		Módulo de elasticidade	
		Imediato	14 dias após	Imediato	14 dias após
C	5	4,9 ± 0,1A	4,8 ± 0,4A	102,5 ± 3,0A	103,2 ± 1,9A
HPF	5	4,9 ± 0,1A	4,9 ± 0,1A	103,9 ± 2,6B	101,6 ± 2,5A
OP	5	4,9 ± 0,1A	5,0 ± 0,1A	098,2 ± 2,6C	102,7 ± 3,3A

Nota*Letras diferentes denotam diferença estatística (p < 0,05)

Não houve diferenças significativas entre os valores de nanodureza, imediatamente nem 14 dias após o clareamento dental (p= 0,501). O módulo de elasticidade do Grupo OP após o clareamento diminuiu imediatamente mais foi recuperado aos 14 dias, o Grupo HPF teve aumento do módulo de elasticidade comparado com o Grupo Controle (p= 0,032) o qual retornou aos valores normais após 14 dias do clareamento dental.

5.2- Microscopia de Força Atômica

Os valores médios e desvio padrão dos percentuais de rugosidade do esmalte (µm) antes e após o clareamento dental estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Valor médio e desvio padrão do percentual de rugosidade do esmalte (μm) antes e após o clareamento dental

Grupo	Ra	Rz
	Média	Média
HPF	26,31 $\pm$ 9,8A	37,9 $\pm$ 28,6B
OP	19,9 $\pm$ 22,4A	23, 2 $\pm$ 28,3A

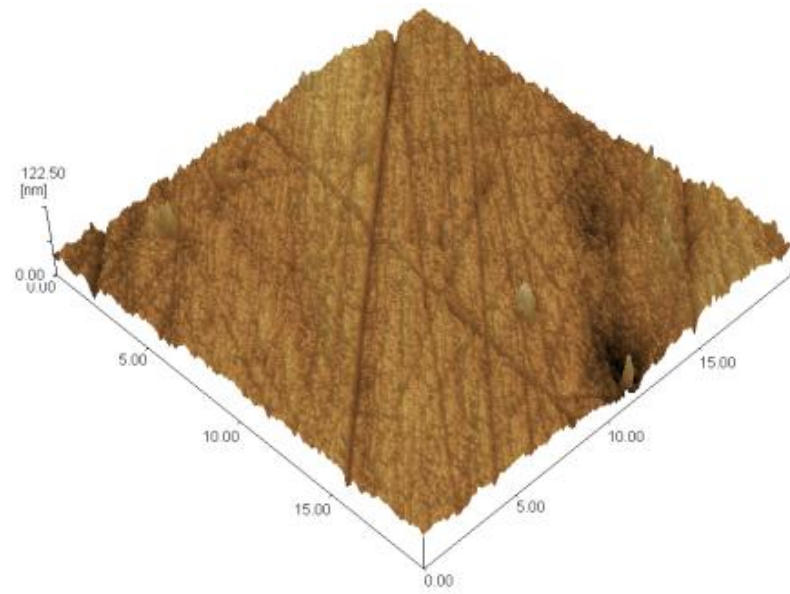
Ra- Rugosidade média

Rz - Distância média

Nota * Letras diferentes denotam diferença estatística ($p < 0,05$)

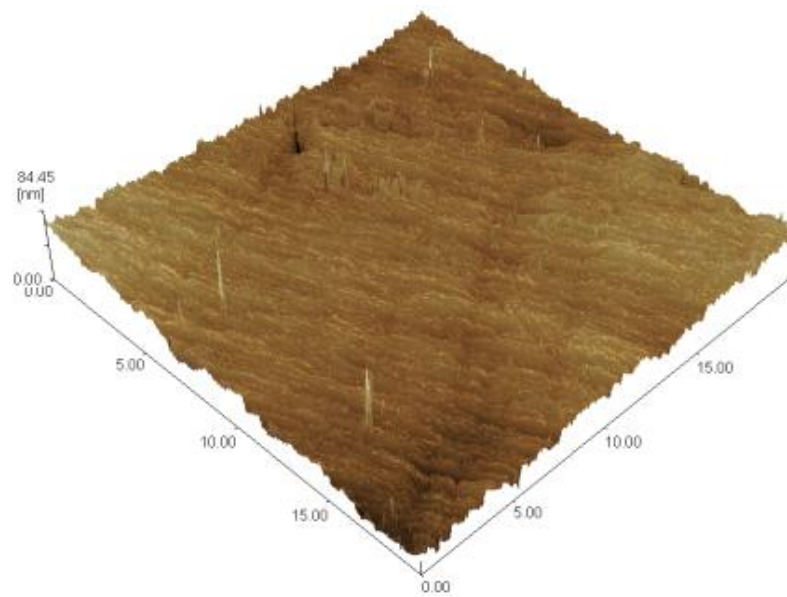
Pode-se observar que o grupo HPF e OP nos percentuais de Ra não tiveram diferença significativa com seu grupo controle ($p=0,07$) porém, nos valores de Rz o grupo HPF apresentou diferença significativa ($p=0,043$) .

Imagens obtidas por meio da Microscopia de Força Atômica para avaliação da superfície do esmalte antes e após o clareamento dental (Figs.4, 5, 6 e 7).



20.00 x 20.00 [um] Z 0.00 - 122.50 [nm]
GHP an 2 - medida 2

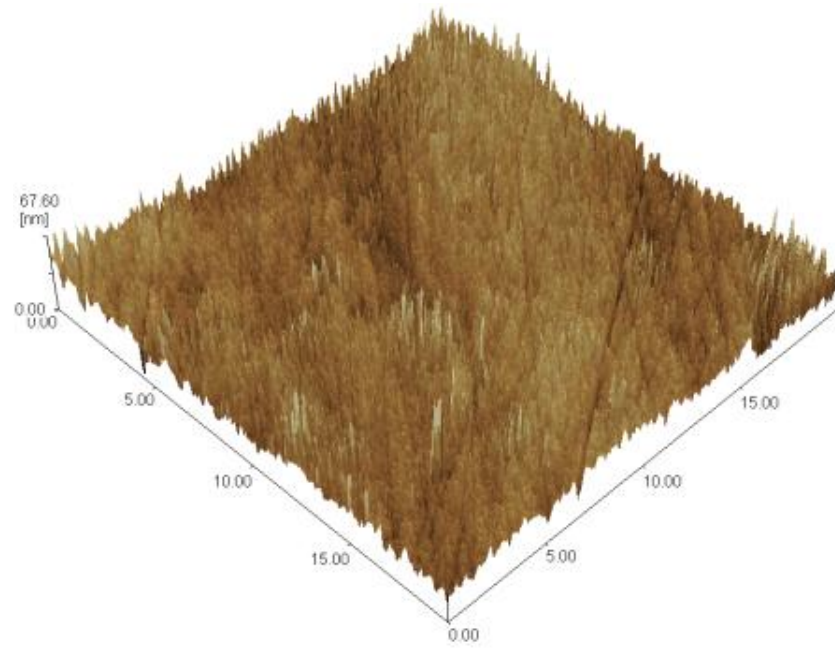
A



20.00 x 20.00 [um] Z 0.00 - 84.45 [nm]
GHP an 5 - medida 2

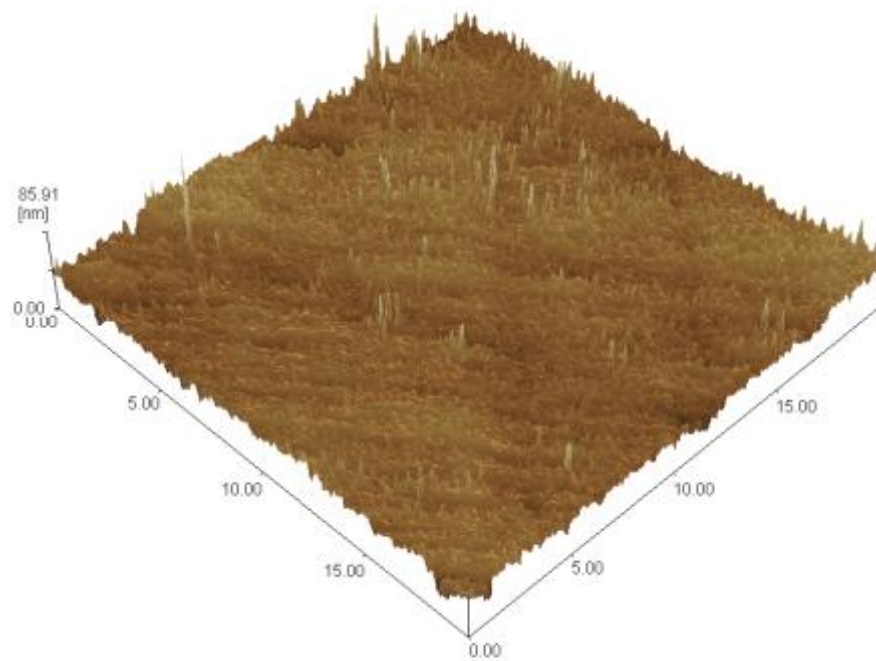
B

Figura 4- Fotomicrografias por AFM - A) e B) Grupo HPF antes do Clareamento



20.00 x 20.00 [um] Z 0.00 - 67.60 [nm]
GHP-PB am2 ned2

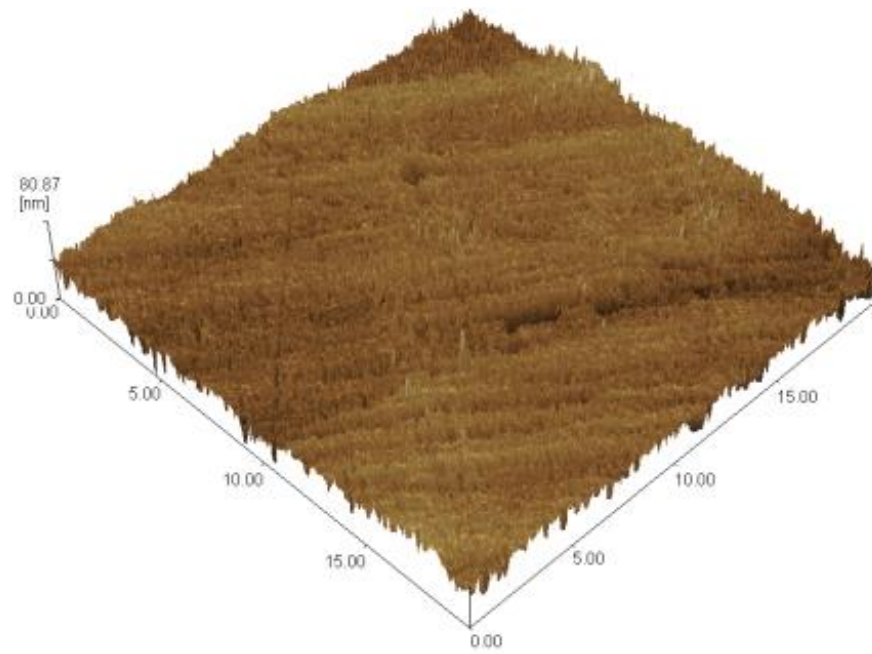
C



20.00 x 20.00 [um] Z 0.00 - 85.91 [nm]
GHP PB am5 3ned

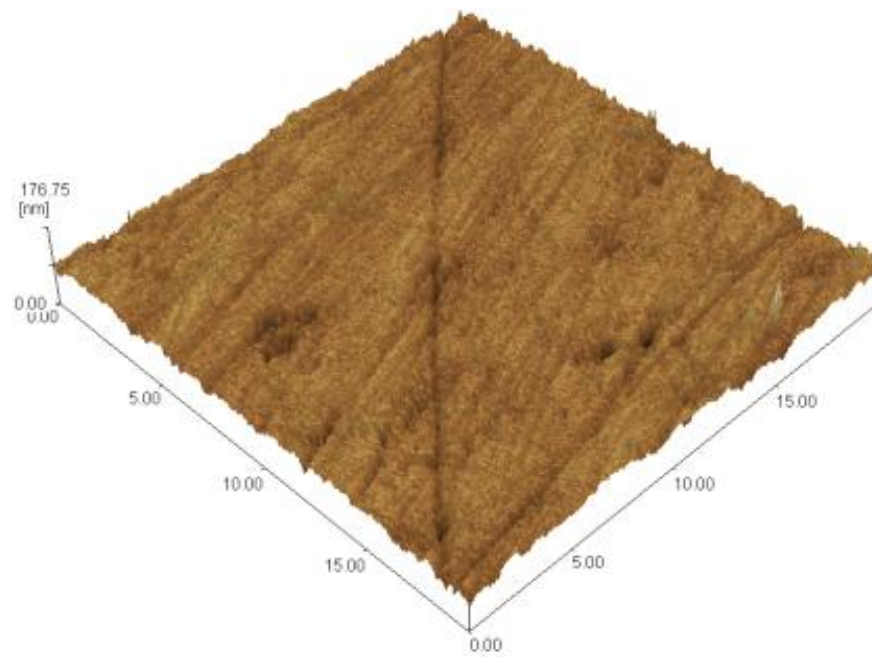
D

Figura 5- Fotomicrografias por AFM. C) e D) Grupo HPF depois do Clareamento



20.00 x 20.00 [μm] Z 0.00 - 80.87 [nm]
GCP an 1 rep 3

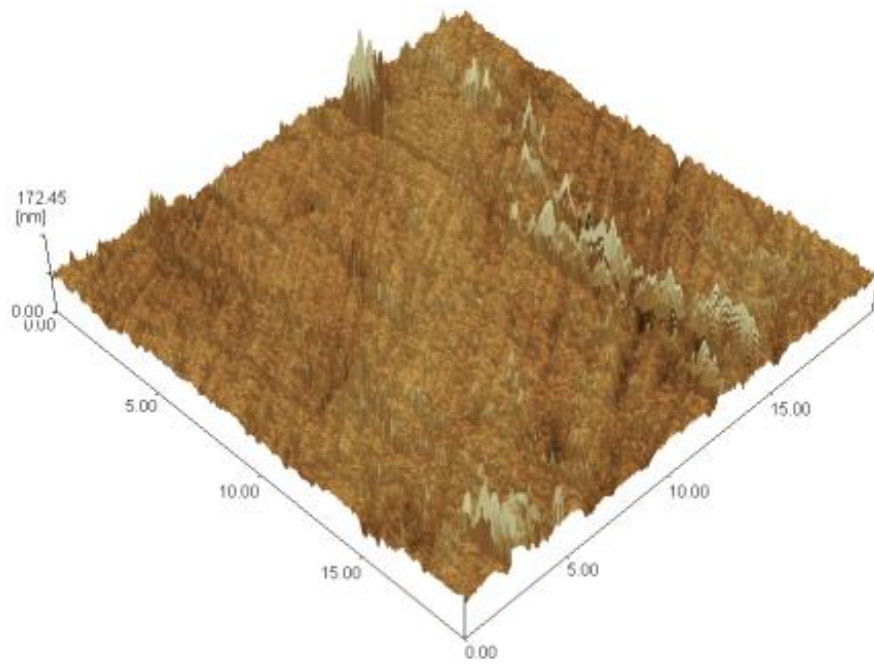
E



20.00 x 20.00 [μm] Z 0.00 - 176.75 [nm]
GCP An 2 medida 1

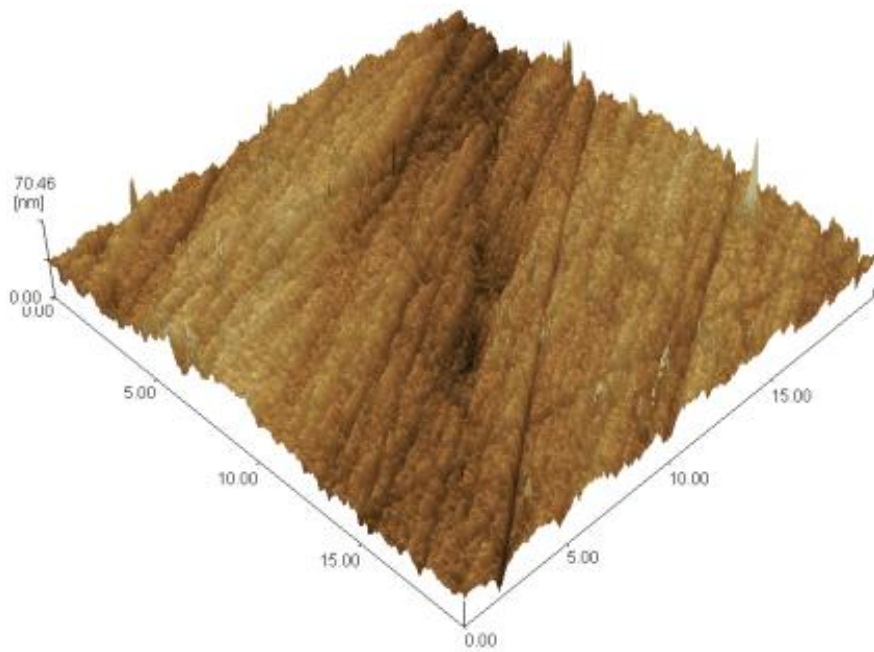
F

Figura 6 - Fotomicrografias por AFM. E) e F) Grupo OP antes do Clareamento



20.00 x 20.00 [μm] Z 0.00 - 172.45 [nm]
 GOP pos clareamento an 2 med 1

G



20.00 x 20.00 [μm] Z 0.00 - 70.46 [nm]
 GOP pos trat an 3 med 2

H

Figura 7- Fotomicrografias por AFM. G) e H) Grupo OP depois do Clareamento

5.3- Microscopia Eletrônica de Varredura

Os valores dos percentuais de erosão estão dispostos na Tabela 3, onde foram encontradas as superfícies do grupo HPF com 83,3% de erosão.

Tabela 3- Número e porcentagens das superfícies de esmalte com e sem erosão.

Tratamento	Erosão	Não erosionada
Controle	1 (16,7) A	5 (83,3)
HPF	5 (83,3) A	1(16,7)
OP	2 (33,3) A	4 (66,7)

Imagens obtidas por meio da Microscopia de Eletrônica de Varredura para avaliação da superfície do esmalte antes e após o clareamento dental (Figs.8, 9 e 10).

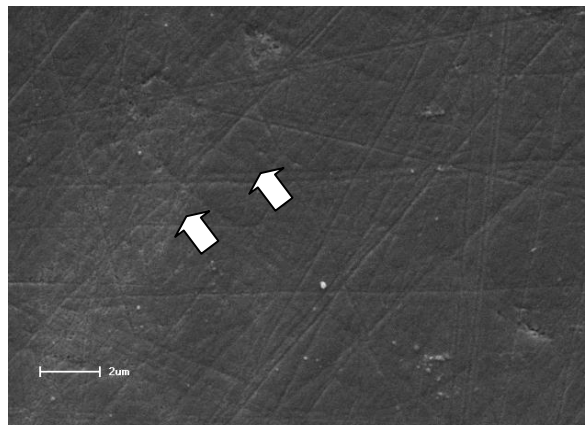


Figura 8- Fotomicrografia por MEV do esmalte– Grupo Controle, com aumento de 5000 X.

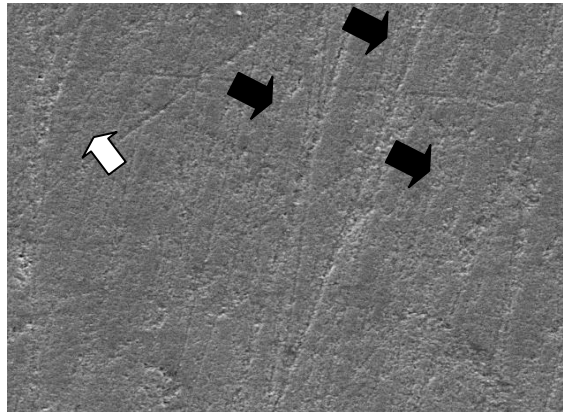


Figura 9- Fotomicrografia por MEV do esmalte – Grupo HPF, com aumento de 5000 X.

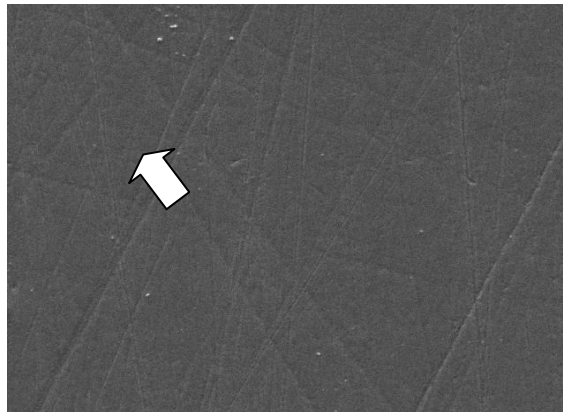


Figura 10- Fotomicrografia por MEV do esmalte – Grupo OP, com aumento de 5000 X.

Nota: Flechas Brancas, riscos no preparo das amostras

Flechas Pretas, erosões feitas pelo clareamento dental

6 DISCUSSÃO

A técnica de nanoindentação é uma técnica nova para avaliação das propriedades mecânicas, devido ao desenvolvimento de materiais como filmes delgados e, aumento do interesse das propriedades físicas das superfícies dos materiais. A metodologia de nanoindentação tem aumentado, em parte, porque os testes de microdureza tem-se revelado inadequados para fazer mensurações em escalas pequenas e, o esmalte dentário é um composto anisotrópico, formado por prismas alinhados com uma largura de seus cristais de hidroxiapatita, de 68 nm e de espessura de 26 nm com bainha rica em proteína (Kerebel et al. ⁴⁹ 1979).

Para Cuy et al. ⁵⁰ 2002, quando caracterizaram as propriedades químicas e a microestrutura do esmalte de dentes molares permanentes em função de sua posição no arco dental, em uma seção transversal axial e oclusal, encontraram na junção esmalte/ dentina dureza menor de 3 GPa e módulo de elasticidade maior de 70 GPa e, no esmalte os valores da dureza foram menores de 6 GPa e do módulo de elasticidade maiores de 115 GPa. O decréscimo encontrado neste trabalho para os valores de dureza e módulo de elasticidade teve uma forte correlação com a composição da estrutura orgânica das partes avaliadas, isto respalda as hipóteses de que as propriedades mecânicas do esmalte são fortemente dependentes do seu grau de mineralização e não da sua microestrutura.

Os valores do módulo de elasticidade e dureza encontrados neste trabalho concordam com os dados encontrados da literatura pertinente, por outros autores (Mahmoud et al. ⁴⁵ 2010; Ferreira et al. ⁴⁶ 2011; Pedreira et al. ⁴⁷ 2011) utilizando técnica de nanoindentação. Estes valores variam entre 80 a 120 GPa para o módulo de elasticidade e de 3 a 6 GPa para nanoindentação de acordo com a variabilidade

do tipo de dente, da idade do doador, da região do dente, da preparação das amostras e armazenamento das mesmas, sendo que nesse estudo foram utilizados terceiros molares e a face vestibular dos mesmos.

Estudos realizados com baixas concentrações de peróxido de hidrogênio demonstraram uma redução nas propriedades mecânicas do esmalte, sendo que Hairul et al.⁵³ (2005), apresentaram entre seus resultados também uma diminuição da dureza superficial do esmalte entre 13% a 28% e do módulo de Young de 18% a 32% utilizando peróxido de hidrogênio 30%. Al-Salehi et al.³¹ 2007 e Jiang et al.¹⁵ (2008), também demonstraram uma perda significativa da dureza superficial do esmalte utilizando peróxido de hidrogênio sem flúor. Já, Cavalli et al.²¹ (2011) avaliaram os efeitos de peróxido de carbamida contendo flúor e cálcio e observaram também uma diminuição significativa da microdureza superficial do esmalte após o clareamento dental. Porém, nesse estudo não houve diferença significativa nos valores de nanodureza do esmalte antes e após 14 dias do tratamento clareador, nem com aplicação tópica do flúor, nem quando este estava incorporado na composição do gel clareador.

A aplicação do peróxido de hidrogênio 38% apresentou redução do módulo de elasticidade sendo que, a dureza superficial e o módulo de elasticidade aumentaram no procedimento imediato; porém, mantiveram-se aos 14 dias. Essa alteração nas propriedades mecânicas presume-se ser devido a mudanças de composição e/ou estruturais nas amostras, no entanto, o mecanismo exato ainda não é completamente compreendido. Tem sido relatado que o peróxido de hidrogênio pode produzir desmineralização do esmalte, sendo maior relevância dada a possível perda e danos do material orgânico por radicais livres como o oxigênio residual, segundo Al-Salehi et al.³¹ (2007) e He et al.¹⁰ (2008), sendo que as proteínas

compõem apenas uma pequena parte do esmalte, mas possuem a função de unir os cristais de hidroxiapatita e de manter a estabilidade da estrutura do esmalte. Portanto, o efeito de agentes clareadores sobre o fragmento de proteína pode comprometer o comportamento mecânico do esmalte (Barbour et al.⁹ 2003). Chen et al.³⁶ (2008) , Mahmoud et al.⁴⁵ (2010), demonstraram que os agentes clareadores após uma semana ainda estão agindo no processo de oxidação por meio de radicais livres, o que resulta na diminuição dos valores da dureza e módulo de elasticidade. No presente estudo, esses valores foram recuperados após 14 dias do procedimento do clareamento dental.

A rugosidade superficial foi avaliada por microscopia de força atômica (AFM) sendo as amostras visualizadas em tempo real, cuja vantagem é sua precisão quantitativa para a mensuração da rugosidade. Estudos como os de Pedreira et al.⁴⁷ (2011) avaliaram a distância média, para conhecer além dos picos, os efeitos nos vales das superfícies. Mahringer et al.¹⁹ (2009) encontraram significativas alterações morfológicas após uma hora do clareamento com peróxido de carbamida 30% e observaram que a rugosidade da superfície aumentou, fazendo uma relação com imagens antes e após o clareamento dental. Pedreira et al.⁴⁷ (2011) avaliaram a rugosidade após o clareamento dental com peróxido de hidrogênio 38% com AFM, não encontrando alterações quando avaliaram a rugosidade média porém, quando da avaliação da distância média encontraram variações devido a presença de vales ocasionados pelo produto. No presente estudo, para ambos os materiais testados ocorreu aumento da rugosidade média, porém, entre os mesmos não houve diferença significativa. Os valores da distância média (Rz) mostraram valores maiores após o clareamento dental. Os resultados podem ser explicados, lembrando que a leitura da rugosidade média (Ra), é feita somente no eixo vertical, ou seja,

somente observam-se picos mais altos, já, na avaliação da distância média é tomado o eixo Z, ou seja, eixo horizontal onde também é avaliado os vales, aumentando a avaliação da superfície e os possíveis efeitos dos clareamentos, corroborando com os estudos de (Park et al. ²⁹ 2004, Ferreira et al. ⁴⁶ 2011), onde avaliaram a utilização de peróxidos de hidrogênio em altas porcentagens.

O aumento da rugosidade Rz no Grupo HPF, é compatível com o aumento da erosão (83,3%) encontrada no estudo com microscopia eletrônica de varredura. Pinto et al.³⁰ (2004), revelaram uma redução estatisticamente significativa na dureza superficial do esmalte e um grande aumento na erosão usando peróxido de hidrogênio 35%. Wiegand et al. ³⁵ (2007) relataram que o pH baixo dos agentes clareadores aumentou a erosão do esmalte. Neste estudo foi detectado um aumento da erosão do esmalte na faixa de 83,3% no grupo que utilizou peróxido de hidrogênio 35% corroborando com Sun et al. ⁴⁸ (2011) os quais concluíram que o aumento da rugosidade ocorre devido as mudanças na porção orgânica do esmalte e pela acidez do gel clareador.

Portanto, devido a grande variabilidade dos resultados na literatura pertinente, sugere-se que mais estudos *in vitro* e *in vivo* são necessários para avaliar os efeitos dos géis clareadores para que não ocorram efeitos deletérios na estrutura dental.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a proposição do estudo e com os resultados obtidos pode-se concluir que:

1. O flúor incorporado ao agente clareador ou sua aplicação tópica não afetou a nanodureza do esmalte dental;
2. O agente clareador com flúor incorporado promoveu, imediatamente após o clareamento dental, diminuição no módulo de elasticidade do esmalte dental;
3. A aplicação tópica do flúor, após o uso do agente clareador sem flúor, aumentou os valores de rugosidade e erosão do esmalte dental.

• REFÊRENCIAS*

1. Sydney-Zax M, Mayer I, Deutsch D. Carbonate content in developing human and bovine enamel. *J Dent Res*. 1991 May;70(5):913-6.
2. Laurance-Young P, Bozec L, Gracia L, Rees G, Lippert F, Lynch RJ, Knowles JC. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralization. *J Dent*. 2011 Apr;39(4):266-72.
3. Stanford JW, Paffenbarger GC, Kumpla JW, Sweeney WT. Determination of some compressive properties of human enamel and dentin. *J Am Dent Assoc*. 1958 Oct;57(4):487-95.
4. Craig RG, Peyton FA, Johnson DW. Compressive properties of enamel, dental cements, and gold. *J Dent Res*. 1961 Sep; 40(5):936-45.
5. Hassan R, Caputo AA, Bunshah RF. Fracture toughness of human enamel. *J Dent Res*. 1981 Apr;60(4):820-7.
6. Xu HH, Smith DT, Jahanmir S, Romberg E, Kelly JR, Thompson VP, Rekow ED. Indentation damage and mechanical properties of human enamel and dentin. *J Dent Res*. 1998 Mar;77(3):472-80.
7. White SN, Luo W, Paine ML, Fong H, Sarikaya M, Snead ML. Biological organization of hydroxyapatite crystallites into a fibrous continuum toughens and controls anisotropy in human enamel. *J Dent Res*. 2001 Jan;80(1):321-6.
8. Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW Jr, Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol*. 2001 Feb;46(2):173-83.
9. Barbour ME, Parker DM, Jandt KD. Enamel dissolution as a function of solution degree of saturation with respect to hydroxyapatite: a nanoindentation study. *J Colloid Interface Sci*. 2003 Sep 1;265(1):9-14.
10. He LH, Swain MV. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2008 Jan;1(1):18-29.
11. Harman LS, Mottley C, Mason RP. Free radical metabolites of L-cysteine oxidation. *J Biol Chem*. 1984 May 10;259(9):5606-11.
12. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int*. 1989 Mar;20(3):173-6.

* De acordo com a norma do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Stricto-sensu da UEPG baseada no modelo Vancouver. Abreviaturas dos periódicos em conformidade com o *Medline*.

13. Carlsson J. Salivary peroxidase: an important part of our defense against oxygen toxicity. *J Oral Pathol.* 1987 Sep;16(8):412-6.
14. Jung CB, Kim HI, Kim KH, Kwon YH. Influence of 30% hydrogen peroxide bleaching on compomers in their surface modifications and thermal expansion. *Dent Mater J.* 2002 Dec;21(4):396-403.
15. Jiang T, Ma X, Wang Y, Tong H, Shen X, Hu Y, Hu J. Investigation of the effects of 30% hydrogen peroxide on human tooth enamel by Raman scattering and laser-induced fluorescence. *J Biomed Opt.* 2008 Jan-Feb;13(1):014019
16. Totoda M, Philpotts CJ, Cox TF, Joiner A. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth-whitening gel on enamel microhardness after extended use. *Quintessence Int.* 2008 Nov;39(10):853-8.
17. Soldani P, Amaral CM, Rodrigues JA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching and thickening agents on human dental enamel. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010 Apr;30(2):203-11.
18. Ushigome T, Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Influence of peroxide treatment on bovine enamel surface--cross-sectional analysis. *Dent Mater J.* 2009 May;28(3):315-23.
19. Mahringer C, Fureder M, Kastner M, Ebner A, Hinterdorfer P, Vitkov L, Hannig M, Kienberger F, Schilcher K. Examination of native and carbamide peroxide-bleached human tooth enamel by atomic force microscopy. *Ultrastruct Pathol.* 2009 Oct;33(5):189-96.
20. De Abreu DR, Sasaki RT, Amaral FL, Flório FM, Basting RT. Effect of Home-Use and In-Office Bleaching Agents Containing Hydrogen Peroxide Associated with Amorphous Calcium Phosphate on Enamel Microhardness and Surface Roughness. *J Esthet Restor Dent.* 2011 Jun;23(3):158-68.
21. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Soares LE, Martin AA, Berger SB, Giannini M. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomed Laser Surg.* 2011 May;29(5):319-25.
22. 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 Feb;25(2):143-57.
23. de 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.

24. de Magalhães MT, Basting RT, de Almeida ER, Pelino JE. Diode laser effect on enamel microhardness after dental bleaching associated with fluoride. *Photomed Laser Surg.* 2009 Dec;27(6):937-41.
25. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent.* 2004 Oct;92(4):337-42.
26. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil.* 1997 Apr;24(4):282-6.
27. Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent.* 1999 Sep;27(7):509-15.
28. Attin T, Kocabiyik M, Buchalla W, Hannig C, Becker K. Susceptibility of enamel surfaces to demineralization after application of fluoridated carbamide peroxide gels. *Caries Res.* 2003 Mar-Apr;37(2):93-9.
29. Park HJ, Kwon TY, Nam SH, Kim HJ, Kim KH, Kim YJ. Changes in bovine enamel after treatment with a 30% hydrogen peroxide bleaching agent. *Dent Mater J.* 2004 Dec;23(4):517-21.
30. Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res.* 2004 Oct-Dec;18(4):306-11.
31. Al-Salehi SK, Wood DJ, Hatton PV. The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *J Dent.* 2007 Nov;35(11):845-50.
32. Attin T, Betke H, Schippan F, Wiegand A. Potential of fluoridated carbamide peroxide gels to support post-bleaching enamel re-hardening. *J Dent.* 2007 Sep;35(9):755-9.
33. da Costa JB, Mazur RF. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an in vitro study. *Oper Dent.* 2007 Nov-Dec;32(6):589-94.
34. Ulukapi H. Effect of different bleaching techniques on enamel surface microhardness. *Quintessence Int.* 2007 Apr;38(4):e201-5.
35. Wiegand A, Schreier M, Attin T. Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel. *Oper Dent.* 2007 Nov-Dec;32(6):610-5.
36. Chen HP, Chang CH, Liu JK, Chuang SF, Yang JY. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. *J Dent.* 2008 Sep;36(9):718-25.

37. Faraoni-Romano JJ, Da Silveira AG, Turssi CP, Serra MC. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. *J Esthet Restor Dent*. 2008;20(6):395-402; discussion 403-4.
38. Mielczarek A, Klukowska M, Ganowicz M, Kwiatkowska A, Kwaśny M. The effect of strip, tray and office peroxide bleaching systems on enamel surfaces in vitro. *Dent Mater*. 2008 Nov;24(11):1495-500.
39. Polydorou O, Hellwig E, Hahn P. The efficacy of three different in-office bleaching systems and their effect on enamel microhardness. *Oper Dent*. 2008 Sep-Oct;33(5):579-86.
40. Borges AB, Samezima LY, Fonseca LP, Yui KC, Borges AL, Torres CR. Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Oper Dent*. 2009 Sep-Oct;34(5):593-7.
41. Gomes MN, Francci C, Medeiros IS, De Godoy Froes Salgado NR, Riehl H, Marasca JM, Muench A. Effect of light irradiation on tooth whitening: enamel microhardness and color change. *J Esthet Restor Dent*. 2009;21(6):387-94.
42. Sasaki RT, Flório FM, Basting RT. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Oper Dent*. 2009 Nov-Dec;34(6):746-52.
43. Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clin Oral Investig*. 2010 Jul 10. [Epub ahead of print].
44. Borges AB, Yui KC, D'Avila TC, Takahashi CL, Torres CR, Borges AL. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Oper Dent*. 2010 Mar-Apr;35(2):180-6.
45. Mahmoud SH, Elembaby Ael S, Zaher AR, Grawish Mel-A, Elsabaa HM, El-Negoly SA, Sobh MA. Effect of 16% carbamide peroxide bleaching gel on enamel and dentin surface micromorphology and roughness of uremic patients: an atomic force microscopic study. *Eur J Dent*. 2010 Apr;4(2):175-82.
46. Ferreira Sda S, Araújo JL, Morhy ON, Tapety CM, Youssef MN, Sobral MA. The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microsc Res Tech*. 2011 Jun;74(6):512-6.
47. Pedreira De Freitas AC, Botta SB, Teixeira FD, Salvadori MC, Garone-Netto N. Effects of fluoride or nanohydroxiapatite on roughness and gloss of bleached teeth. *Microsc Res Tech*. 2011 Dec; 74(12): 1069-75 doi 10.1002/jemt.20996. Epub 2011 may11.

48. Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T, Wang Y. Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent*. 2011 Oct;39(10):686-92.
49. Kerebel B, Daculsi G, Kerebel LM. Ultrastructural studies of enamel crystallites. *J Dent Res*. 1979 Mar;58(Spec Issue B):844-51.
50. Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol*. 2002 Apr; 47(4): 281-91.
51. Huja SS, Beck FM, Thurman DT. Indentation properties of young and old osteons. *Calcif Tissue Int*. 2006 Jun;78(6):392-7.
52. Bao YW, Wang W, Zhou YC. Investigation of the relationship between elastic modulus and hardness based on depth-sensing indentation measurements. *Acta Materialia* 2006;52: 597–04.
53. Hairul Nizam BR, Lim CT, Chng HK, Yap AU. Nanoindentation study of human premolars subjected to bleaching agent. *J Biomech*. 2005 Nov;38(11):2204-11.
54. Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Material Research* 1992; 7: 1564–83.

PARECER Nº 135/2010
Protocolo: 14041/10

Em reunião ordinária, realizada dia 25 de Novembro de 2010, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado **"Avaliação ultraestrutural do esmalte após clareamento dental associado com flúor"** de responsabilidade da pesquisadora Osnara Maria Mongruel Gomes.

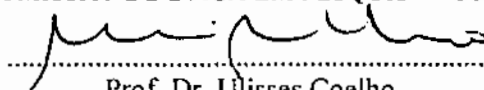
Conforme Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a esta Comissão, relatórios sobre andamento da pesquisa, conforme modelo (<http://www.uepg.br/coep/>).

Data para entrega do relatório parcial: Julho de 2011

Data para entrega do relatório final: Março de 2012

Ponta Grossa, 26 de Novembro de 2010.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


Prof. Dr. Ulisses Coelho
Coordenador