

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – MESTRADO
AREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA INTEGRADA**

ANDRÉS FERNANDO MONTENEGRO ARANA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES INOVADORAS
DE GÉIS DE PERÓXIDO DE CARBAMIDA CONTENDO NANOPARTÍCULAS
DE BIOVIDRO OU HIDROXIAPATITA: ESTUDO IN *VITRO***

PONTA GROSSA

2014

ANDRÉS FERNANDO MONTENEGRO ARANA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES INOVADORAS
DE GÉIS DE PERÓXIDO DE CARBAMIDA CONTENDO NANOPARTÍCULAS
DE BIOVIDRO OU HIDROXIAPATITA: ESTUDO IN *VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada, linha de pesquisa de Terapêutica Clínica Aplicada à Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Vitor Farago
Co-orientador: Prof. Dr. Fábio André dos Santos

PONTA GROSSA

2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

A662 Arana, Andrés Fernando Montenegro
Desenvolvimento e avaliação de
formulações inovadoras de géis de peróxido
de carbamida contendo nanopartículas de
biovidro ou hidroxiapatita: estudo in
vitro/ Andrés Fernando Montenegro Arana.
Ponta Grossa, 2014.
99f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia -
Área de Concentração: Clínica Integrada),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Vitor
Farago.

Coorientador: Prof. Dr. Fábio André dos
Santos.

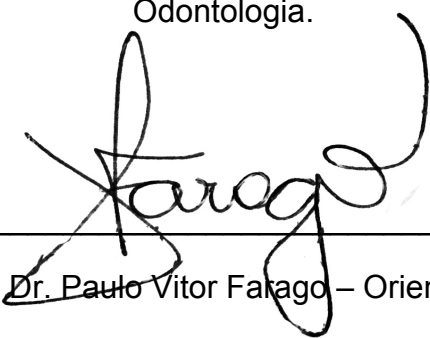
1.Biovidro. 2.Clareamento dental.
3.Hidroxiapatita. 4.Nanopartículas.
5.Peróxido de carbamida. I.Farago, Paulo
Vitor. II. Santos, Fábio André dos. III.
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Mestrado em Odontologia. IV. T.

CDD: 617.6

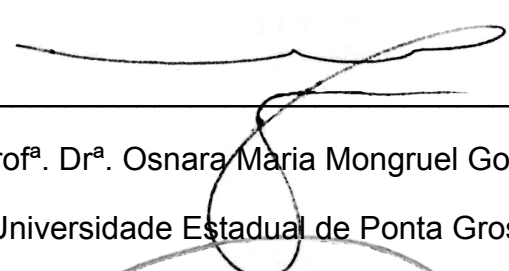
ANDRÉS FERNANDO MONTENEGRO ARANA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES INOVADORAS
DE GÉIS DE PERÓXIDO DE CARBAMIDA CONTENDO NANOPARTÍCULAS
DE BIOVIDRO OU HIDROXIAPATITA: ESTUDO IN VITRO**

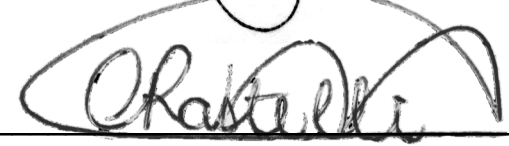
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada, linha de pesquisa de Terapêutica Clínica Aplicada à Odontologia.



Prof. Dr. Paulo Vitor Farago – Orientador
Universidade Estadual de Ponta Grossa



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



Prof. Dr. Márcio Cristiano de Souza Rastelli
Universidade Regional de Blumenau

Ponta Grossa, 17 de fevereiro de 2014.

DADOS CURRICULARES

Andrés Fernando Montenegro Arana

NASCIMENTO 04.12.1989

Santiago de Cali – Colômbia

FILIAÇÃO

Diana Fernando Arana Gordillo

Julio Fernando Montenegro Beltran

2006 - 2011

Curso de Graduação em Odontologia Universidad Santiago de Cali (USC), Cali – Colômbia.

2012

Curso em andamento de Pós-graduação em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada. Nível Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa – Brasil.

**Dedico esta dissertação de mestrado aos meus
pais, Fernando e Diana, e aos meus
irmãos, Natalia e Sebastian**

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em especial, a este maravilhoso país, por ter me permitido estudar e conhecer a sua cultura.

Ao meu orientador, Professor Doutor Paulo Vitor Farago, por ter me acompanhado no crescimento pessoal e profissional. Obrigado pela ajuda, paciência, companhia e amizade.

Ao Professor Doutor Alessandro Dourado Loguercio, pela grande ajuda na realização deste trabalho.

Aos Professores Doutores João Carlos Gomes e Osnara Maria Mongruel Gomes, por ter me permitido fazer parte do Programa de Pós-graduação da prestigiosa Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Aos meus pais, pelo amor incondicional e por sempre me ajudarem a seguir adiante com todos os meus projetos.

Ao meu Pai, Julio Fernando Montenegro Arana, *in memoriam*, que lá do céu está sempre me acompanhando e à minha mãe, Diana Fernanda Arana Gordillo, pessoa de valores, uma grande mulher e mãe.

Aos meus irmãos, Natalia e Sebastian.

Aos meus amigos, Carlos Andrés Dávila Sanchez, Camilo Pulido, Andrés Felipe Millan, por ter convivido comigo, como família, ao longo destes dois anos e por terem me brindado com a amizade incondicional.

À Universidade Santiago de Cali, por ter me conferido o título de Odontólogo.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade de fazer parte do Programa de Pós-graduação em Odontologia.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

Montenegro, A.F. **desenvolvimento e avaliação de formulações inovadoras de géis de peróxido de carbamida contendo nanopartículas de biovidro ou hidroxiapatita: estudo *in vitro***. [Dissertação de Mestrado em Odontologia – Área de Concentração, Clínica Integrada]. Ponta Grossa, 2014.

O objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar formulações inovadoras de gel de peróxido de carbamida contendo nanopartículas de biovidro (Bv) ou de hidroxiapatita (HaP) para o clareamento dental em consultório (PC) 37,5%, nas propriedades mecânicas do esmalte dental, na permeabilidade dentinária e efetividade do clareamento dental. A hipótese estabelecida para este trabalho é que as nanopartículas de Bv e de HaP podem mineralizar o esmalte e reduzir a difusão do peróxido de hidrogênio (PH) para a câmara pulpar, sem comprometer o potencial clareador. Foram selecionados dentes bovinos obtidos do Matadouro Municipal de Ponta Grossa, Paraná, Brasil, que foram armazenados em água destilada até a confecção dos corpos de prova (CPs). Os CPs ou coroas foram distribuídos aleatoriamente e tratados com os seguintes grupos experimentais: controle positivo: gel de Carbopol® EDT2020 contendo PC 37,5%, sem a presença de nanopartículas de Bv e de HaP (37,5%PC), gel de Carbopol® EDT2020 contendo PC 37,5% e adicionado 5% de nanopartículas de Bv (37,5%PC+5%Bv), gel de Carbopol® EDT2020 contendo PC 37,5% e adicionado 5% de nanopartículas de HaP (37,5%PC+5%HaP), gel de Carbopol® EDT2020 contendo 5% de nanopartículas de Bv (5%Bv), gel de Carbopol® EDT2020 contendo 5% de nanopartículas de HaP (5%HaP), controle negativo: gel de Carbopol® EDT2020 (CAR) e grupo sem nenhum tratamento (D). As formulações foram aplicadas em 3 sessões, a cada 5 dias, sendo que o gel permaneceu em contato com o dente por um período total de 45 min por sessão, dividido em 3 aplicações de 15 min. Os CPs foram submetidos às análises morfológicas e químicas de superfície (microscopia eletrônica de varredura, energia dispersiva de raios X e microscopia de força atômica), à rugosidade superficial e à dureza superficial. Os dentes foram tratados com os grupos 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv e 37,5%PC+5%HaP, para avaliar a permeabilidade do PH frente ao grupo D. O efeito clareador dessas formulações contendo PC foi investigado por meio do processo de pigmentação artificial, empregando vinho tinto e chá-preto. As análises morfológicas confirmaram a presença de agregados de partículas na superfície do esmalte, tanto para os grupos contendo biovidro (37,5%PC+5%Bv e 5%Bv), quanto para os grupos com hidroxiapatita (37,5%PC+5%HaP e 5%HaP). Com relação à rugosidade superficial e microdureza superficial, apenas o grupo 37,5%PC apresentou uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$), comparando-se os resultados iniciais e finais para cada grupo. A efetividade clareadora dos grupos 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv e 37,5%PC+5%HaP foi avaliada com o auxílio de um espectrofotômetro portátil, comprovando a eficácia dos três tratamentos. As nanopartículas de Bv e HaP reduziram a desmineralização do esmalte causada pelo gel PC 37,5%, impediram a difusão do PH para a câmara pulpar e não afetaram/ reduziram a efetividade do clareamento com PC 37,5%.

Palavras-chave: *Biovidro*, Clareamento dental, Hidroxiapatita, Nanopartículas, Peróxido de carbamida.

ABSTRACT

Montenegro, A.F. **Development and evaluation of innovative carbamide peroxide gels containing bioglass or hydroxyapatite nanoparticles: *in vitro* study.** [Master's level dissertation in Dentistry – area of concentration: Integrated Clinical Practice]. Ponta Grossa, 2014.

The aim of this study was to obtain and investigate the *in vitro* effect of bioglass (Bv) and hydroxyapatite (HaP) nanoparticles loaded into a gel of 37.5% carbamide peroxide on mechanical properties of enamel, hydrogen peroxide permeability and tooth bleaching. The hypothesis of this study is that Bv and HaP nanoparticles can reinforce the enamel and avoid the diffusion of hydrogen peroxide to the pulp chamber, without affecting bleaching potential. Bovine teeth were obtained from Matadouro Municipal de Ponta Grossa, Paraná, Brazil, and stored into distilled water until the preparation of specimens. The specimens were randomly distributed into the experimental groups: positive control: Carbopol™ EDT2020 gel containing 37.5% carbamide peroxide without nanoparticles (37.5%PC), Carbopol™ EDT2020 gel containing 37.5% carbamide peroxide and 5% bioglass nanoparticles (37.5%+5%BvPC), Carbopol™ EDT2020 gel containing 37.5% carbamide peroxide and 5% hydroxyapatite nanoparticles (37.5% PC+5%HaP), Carbopol™ EDT2020 gel containing 5% bioglass nanoparticles (5%Bv), Carbopol™ EDT2020 gel containing 5% hydroxyapatite nanoparticles (5%HaP), negative control: Carbopol™ EDT2020 gel (CAR), a non-treated group (D). These formulations were applied in 3 sessions after 5 days from each one, during 45 min per session, divided into 3 applications of 15 min. The specimens were evaluated using morphological and chemical analyses (scanning electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy and atomic force microscopy), roughness and hardness. The permeability of peroxide hydrogen was investigated for 37.5%PC, 37.5%PC+5%Bv and 37.5%PC+5%HaP and compared to group D. An artificial pigmentation process based on red wine and black tea was used to evaluate the whitening effect of 37.5%PC, 37.5%PC+5%Bv and 37.5%PC+5%HaP. Morphological analyses confirmed the presence of particle aggregates on enamel surface for 37.5%PC+5%Bv, 5%Bv, 37.5%PC+5%HaP and 5%HaP. Only 37.5%PC showed a statistically significant reduction ($p < 0.05$) of hardness and roughness when the initial and final results for each group were evaluated. The bleaching effect of 37.5%PC, 37.5%PC+5%Bv and 37.5%PC+5%HaP was successfully confirmed by the use of a portable spectrophotometer. Bioglass and hydroxyapatite nanoparticles avoid enamel demineralization caused by a 37.5% carbamide peroxide gel, prevent the diffusion of hydrogen peroxide to the pulp chamber and did not affect/reduce the whitening effect of carbamide peroxide 37.5%.

Keywords: Bioglass, Carbamide Peroxide, Hydroxyapatite, Nanoparticles, Tooth bleaching.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. A- Dentes bovinos hígidos (N=35); B- Secção da raiz dos dentes para obtenção das coroas C- Obtenção de fragmentos de esmalte de 3 x 3 x 2 mm; D- Imersão dos fragmentos em resina acrílica autopolimerizável; E- Polimento dos fragmentos com lixas de carbeto de silício; F- Distribuição aleatória por tipo de tratamento a receber; Subdivisão aleatória por tipo de ensaio; G- Rugosidade n=10 por cada grupo; H- Rugosidade n=10 por cada grupo; I- Subdivisão dos fragmentos da rugosidade para obtenção das imagens de AFM; J- Subdivisão dos fragmentos da dureza para obtenção das imagens de MED e EDS..... 44
- Figura 2. A- Incisivo lateral bovino hígido; B- Coroa dental seccionada $3\pm 0,5$ mm acima da junção cimento-esmalte; C- Impermeabilização com duas camadas de esmalte de unha; D- Área de aproximadamente 7 x 7 mm na vestibular dos dentes; E- Mensuração e padronização ($3\pm 0,5$ mm) da espessura do conjunto esmalte/dentina vestibular; F- Dispositivo individualizado para contenção e armazenamento dos dentes; G- Fenestração para permitir acesso à câmara pulpar; H- Preenchimento da câmara pulpar com 50 μ L de solução tampão acetato; I- Aplicação do agente clareador sobre a superfície exposta; J- Dente com gel clareador armazenado hermeticamente durante 45 min em estufa a 37° C; K- Limpeza da superfície vestibular com gaze após o clareamento; L- Coleta da solução tampão; M- Coleta de 30 μ L de cada dente, divididos em três tubos de ensaio (10 μ L cada); N- Adição de 2 mL de reagente para cada 10 μ L de solução tampão coletada; O- Armazenamento da triplicata em estufa por 5 min; P- Coleta de 200 μ L de cada tubo de ensaio para uma placa de 96 poços; Q e R- Leitura em espectrofotômetro a 510 nm; s- Armazenamento em umidade relativa com saliva artificial..49
- Figura 3. A- Obtenção da quantidade necessária de solução tampão e diluição do peróxido de hidrogênio 30%; B- Mistura das quantidades exatas de solução tampão e peróxido diluído para obter uma curva de 7 pontos (triplicata); C- Reagente colorimétrico Glicose PP; D- Mistura de 10 μ L de cada ponto da curva de peróxido da curva com 2mL de reagente colorimétrico; E- Armazenamento em tubos de ensaio estufa a 37° C por 5 min para completar a reação colorimétrica; F- Obtenção de 200 μ L de cada tubo de ensaio para serem colocados num dos poços da placa para análise espectrofotométrica; G- Leitura da placa no espectrofotômetro a 510 nm; H- Obtenção da curva analítica.....51
- Figura 4. A- Confecção da matriz para facilitar a leitura da cor; B- Aabertura circular de 5 mm na superfície vestibular dos dentes no terço médio configurada para padronização do registro da cor; C- Fácil remoção das coroas da matriz para a aplicação dos tratamentos; D- Registro inicial da cor com o

espectrofotômetro VITA Easyshade; E- Close-up do registro inicial da cor; F- Coroas retiradas da matriz e recolocadas em outra matriz, que facilitar a aplicação dos tratamentos; G- Fotografia representativa dos tratamentos; H- Após a aplicação dos tratamentos os dentes foram levados para estuda a 37 °C, com a finalidade de padronizar a temperatura e a degradação dos tratamentos; I- registro final da cor com o espectrofotômetro VITA Easyshade; J- Close-up do registro final da cor 53

Figura 5. Caracterização das nanopartículas de Bv. (a) Fotomicrografia obtida do MEV; (b) Espectro por EDX; (c) Fotomicrografia obtida do AFM; (d) Imagem do Raman; (e) Espectro FTIR; (f) Espectro Raman; (g) DRX; (h) Z-análise.....	55
Figura 6. Caracterização das nanopartículas de Bv. (a) Fotomicrografia obtida do MEV; (b) Espectro por EDX; (c) Fotomicrografia obtida do AFM; (d) Imagem do Raman; (e) Espectro FTIR; (f) Espectro Raman; (g) DRX; (h) Z-análise.....	56
Figura 7. Fotomicrografias obtidas por MEV após os tratamentos grupos; (a) PC 37,5%; (b) PC 37,5%+5%Bv; (c) PC 37,5%+5%HaP; (d) 5%Bv; (e) 5%HaP; (f) Carb; (g) D	57
Figura 8. Análise de espectros da composição química da superfície dos diferentes grupos; (a) PC 37,5%; (b) PC 37,5%+5%Bv; (c) PC 37,5%+5%HaP; (d) 5%Bv; (e) 5%HaP; (f) Carb; (g) D.....	58
Figura 9. Fotomicrografias de AFM dos grupos; (a) 37,5%PC; (b) 37,5%PC+5%Bv; (c) 37,5%PC+5%HaP; (d) 5%Bv; (e) 5%HaP; (f) Carb; (g) D.	60
Figura 10. Potencial clareador do grupo 37,5% PC; a) Antes; b) Após tratamento ..	64
Figura 11. Potencial clareador do grupo 37,5%PC+5%Bv; a) Antes; b) Após tratamento	64
Figura 12. Potencial clareador do grupo 37,5%PC+5%HaP; a) Antes; b) Após tratamento	64
Gráfico 1. Permeabilidade dos grupos experimentais na câmara pulpar (µg/mL) ..	63

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1.	Efeitos Secundários decorrentes do uso de Agentes Clareadores.....	23
Tabela 2.	Valores de média e desvio padrão da rugosidade média (Ra) inicial e final expressos em μm	61
Tabela 3.	Valores de média e desvio padrão da microdureza inicial e final, expressos em KHN	62
Tabela 4.	Valores das médias e desvio padrão da permeabilidade dos grupos experimentais na câmara pulpar	63
Tabela 5.	Efetividade dos clareadores, analisada por meio da escala de cor VITAclassic	64
Quadro 1.	Cronologia e detalhamento dos estudos científicos envolvendo o clareamento dental.....	18
Quadro 2.	Classificação dos agentes dessensibilizantes dentinários, segundo o mecanismo de ação	25
Quadro 3.	Formulação do gel de peróxido de carbamida 37,5%	37
Quadro 4.	Tratamentos experimentais para avaliar <i>in vitro</i> o efeito das nanopartículas de Bv e HaP em gel de peróxido de carbamida 37,5%.....	46
Quadro 5.	Figura da escala de cor segundo o valor	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2 HO	Hidroxila radical livre
ACP	Fosfato de amorfo de cálcio
ANOVA	Análise de Variância
Bv	Biovidro
CPP-ACP	Complexo de caseína fosfopeptídea e fosfato amorfo de calcio
DF	Fluoreto de sódio por dia
EUA	Estados Unidos de América
FTF	Fluoreto de sódio Final
g	Grama(s)
h	Hora(s)
H	Hidrogênio radical livre
HaP	Hidroxiapatita
HaPF	Hidroxiapatita Flouretada
HOO	Hidroperoxila radical livre
ITTF	Fluoreto de sódio Inicial e Final
ISO	Organização Internacional para Padronização
kg	Quilograma(s)
KHN	Microdureza Knoop
L	Litro(s)
mL	mililitro(s)
mm	Milímetro(s)
mm²	Milímetro Quadrado
mol	Mol
n.d.	Não detectado(a)
nm	nanômetro(s)
O–H	Clivagem hemolítica de uma ligação
PH	Peróxido de Hidrogênio
pH	Potencial Hidrogênio
q.s.p	Quantidade suficiente para
Ra	Medida de Rugosidade média

RAb	Rugosidade Superficial Inicial
RaF	Rugosidade Superficial Final
Rs	Rugosidade Superficial
s	Segundo(s)
WF	Fluoreto de sódio por semana
µg	Micrograma(s)
µl	Microlitro(s)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
α	Alfa
p	Valor-p
OH^-	Íon Hidroxila
°C	Grau(s) Celsius
<	Menor
>	Maior
=	Igual

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1. SISTEMAS CLAREADORES DENTAIS E SEUS PRIMÓRDIOS	18
2.2. AGENTES CLAREADORES: USOS E AÇÕES	20
2.3. PROCESSO DE CLAREAMENTO DENTAL.....	22
2.4. MECANISMO DE AÇÃO DOS AGENTES CLAREADORES.....	22
2.5. EFEITOS SECUNDÁRIOS DO CLAREAMENTO DENTAL.....	23
2.6. TRATAMENTO DA HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA RESULTANTE DO CLAREAMENTO DENTAL	24
2.6.1. Agentes Dessensibilizantes	25
2.6.2. Principais dessensibilizantes dentinários incorporados nos agentes clareadores	26
2.6.2.1. Flúor.....	26
2.6.2.2. Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	27
2.7. CERÂMICAS BIOATIVAS	27
2.7.1. Biovidros	27
2.8. HIDROXIAPATITA	28
2.9. EFEITO CLAREADOR NO ESMALTE DENTAL E ALTERAÇÕES NA RUGOSIDADE, MICRODUREZA, MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA	29
2.9.1. Estudos avaliando a rugosidade superficial.....	29
2.9.2. Estudos avaliando a dureza superficial e alterações na morfologia do esmalte	31
2.10. DIFUSÃO DOS AGENTES CLAREADORES.....	33
3. OBJETIVOS	35
3.1. OBJETIVO GERAL	35
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1.1. Padronização da solução de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) 50%.....	36
4.1.2. Obtenção dos cristais de peróxido de carbamida e manipulação do gel de peróxido de carbamida 37,5%	37
4.2. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO (Bv)	38
4.2.1. Materiais.....	38
4.2.2. Preparação das nanopartículas de cerâmica de vidro bioativa (SiO ₂ -CaO-P ₂ O ₅)	38
4.3. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA (HaP)	39
4.3.1. Materiais.....	39
4.3.2. Preparação das nanopartículas de hidroxiapatita.....	39
4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO E DE HIDROXIAPATITA	39
4.4.1. Análise por microscopia eletrônica de varredura	39

4.4.2.	Análise por microscopia de força atômica	40
4.4.3.	Determinação do diâmetro médio e do potencial zeta.....	40
4.4.4.	Análise por difração de raios X	40
4.4.5.	Análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia	40
4.4.6.	Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho	41
4.4.7.	Análise por espectroscopia Raman	41
4.4.8.	Análise termogravimétrica.....	41
4.4.9.	Calorimetria exploratória diferencial.....	41
4.5.	INCORPORAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO OU DE	
	HIDROXIAPATITA NO GEL DE PERÓXIDO DE CARBAMIDA 37,5%	42
4.6.	OBTENÇÃO DOS DENTES BOVINOS	42
4.6.1.	Experimento 1: Obtenção dos corpos de prova para as análises de	
	rugosidade superficial, dureza superficial, MEV, EDX e AFM.....	42
4.6.2.	Experimento 2: Obtenção dos corpos de prova para a análise da	
	efetividade dos agentes clareadores e permeabilidade do peróxido de	
	hidrogênio.....	45
4.7.	TRATAMENTOS	45
4.8.	EXPERIMENTO 1: ANÁLISES MORFOLÓGICAS E QUÍMICAS DE	
	SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTAL APÓS OS TRATAMENTOS	46
4.8.1.	Rugosidade superficial.....	47
4.8.2.	Microdureza superficial	47
4.9.	EXPERIMENTO 2: ANÁLISES DA DIFUSÃO DO PH E ANALISE DO	
	POTENCIAL CLAREADOR DOS TRATAMENTOS.....	48
4.9.1.	Análise da difusão do PH.....	48
4.9.2.	Análise do potencial clareador	52
4.10.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5.	RESULTADOS	55
5.1.	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE	
	BIOVIDRO E DE HIDROXIAPATITA	55
5.1.1.	Nanopartículas de biovidro	55
5.1.2.	Nanopartículas de hidroxiapatita.....	56
5.2.	ANÁLISES MORFOLÓGICAS E QUÍMICAS DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE	
	DENTAL	57
5.2.1.	Microscopia eletrônica de varredura	57
5.2.2.	Espectroscopia de raios X por dispersão em energia.....	58
5.2.3.	Microscopia de força atômica	59
5.3.	RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL	61
5.4.	MICRODUREZA SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL.....	61
5.5.	DIFUSÃO DO PH	62
5.6.	EFETIVIDADE DOS AGENTES CLAREADORES	63
6.	DISCUSSÃO	65
6.1.	RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL	65
6.2.	MICRODUREZA SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL.....	66

6.3.	ANÁLISE MORFOLÓGICA E QUÍMICA DA SUPERFÍCIE DENTAL	67
6.4.	PERMEABILIDADE DO PH	68
6.5.	EFETIVIDADE DOS AGENTES CLAREADORES	69
7.	CONCLUSÃO.....	70
	Referências	71
	ANEXO A - Pedido de Patente (AGIPI).....	81

1. INTRODUÇÃO

Um sorriso com aparência saudável e agradável é amplamente aceito pela sociedade contemporânea. Além disso, dentes com cores mais claras têm sido considerados como um símbolo de beleza estética.

Nesse sentido, o uso de produtos clareadores dentais contendo peróxido de hidrogênio (PH) e peróxido de carbamida (PC) é cada vez mais frequente e mais difundido nos consultórios odontológicos. Entretanto, diversos efeitos secundários; como a perda mineral do esmalte dental, alterações na rugosidade superficial e sensibilidade dentária, podem ser decorrentes da aplicação dessa estratégia (Martin et al. ¹ 2010; Abouassi et al. ² 2011; Abreu et al. ³ 2011). Na tentativa de mitigar esses efeitos, componentes dessensibilizantes ou biomateriais têm sido adicionados aos produtos clareadores dentais (Vasconcelos et al. ⁴ 2012; Borges et al. ⁵ 2013). Esses compostos, sem interferir na eficácia do tratamento, têm por propósito diminuir a sensibilidade pós-procedimento e remineralizar o esmalte dental (Armênio ⁶ 2006).

O Fosfato de cálcio amorfo (ACP) é uma das substâncias com maior eficácia, quando incorporado nas formulações de clareamento dental, logrando êxito em diminuir o efeito secundário do tratamento (Vasconcelos et al. ⁴ 2012; Borges et al. ⁵ 2013). Estudos prévios demonstraram que o ACP promoveu o bloqueio de túbulos dentinários, quando aplicado em dentina exposta, o qual foi capaz de auxiliar na correção de defeitos superficiais do esmalte (Matis et al. ⁷ 2007; Cavalli et al. ⁸ 2011).

As cerâmicas bioativas de vidro ou Biovidro (Bv) foram descobertas e introduzidas no âmbito médico e biológico no ano 1973 por Hench (Hench ⁹ 1973), como materiais para melhorar as superfícies de implantes ortopédicos. Atualmente, o NovaMin (NovaMin Technology, FL, EUA) (Hench ¹⁰ 1991; Bakry et al. ¹¹ 2011) é um produto comercial contendo Bv, que diminui a sensibilidade dentinária, por produzir uma interação com a superfície dentária, por meio da precipitação de íons de cálcio e de fosfato, resultando na formação de uma camada de HaP, a qual pode obliterar os túbulos dentinários expostos (Gillam et al. ¹² 2002; Forsback et al. ¹³ 2004) e promover a remineralização dental (Hench ¹⁴ 2006; Mitchell et al. ¹⁵ 2011).

A Hidroxiapatita (HaP) é considerada um dos materiais mais biocompatíveis e bioativos, com aplicação relevante na Medicina e na Odontologia

(Hannig e Hannig ¹⁶ 2010). Existem relatos que as nanopartículas de HaP têm semelhança com os cristais de apatita do esmalte (Vandiver et al. ¹⁷ 2005). Considerando essa semelhança, alguns estudos recentes têm mostrado que as nanopartículas de HaP possuem potencial reparador do esmalte dental (Huang et al. ¹⁸ 2010; Kim et al. ¹⁹ 2007; Orsini et al. ²⁰ 2010; Yamagishi et al. ²¹ 2005). Tschoppe et al. ²² (2011) estudaram as alterações superficiais de lesões no esmalte e na dentina e confirmaram a remineralização e a troca iônica entre a HaP e a superfície dental.

Entretanto, a partir da literatura consultada, não há relatos disponíveis sobre produtos clareadores dentais contendo nanopartículas de Bv e HaP. Esses nanomateriais, quando aplicados concomitantemente aos produtos para clareamento dental, têm potencial de reduzir ou evitar a presença de efeitos secundários durante o tratamento, o que os tornam estratégias interessantes no desenvolvimento de novos sistemas clareadores.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar *in vitro*, formulações inovadoras de gel de PC 37,5%, contendo nanopartículas de Bv e de HaP para uso em procedimentos de clareamento dental.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. SISTEMAS CLAREADORES DENTAIS E SEUS PRIMÓRDIOS

Atualmente, dentes com cores mais claras e a harmonia do sorriso são considerados qualidades de maior relevância para se estabelecer uma boa comunicação, já que uma aparência agradável, estética e saudável é facilmente aceita pela sociedade. Os primeiros relatos versando sobre o clareamento dental datam de 1864 (Truman ²³ 1864). A partir desse momento, uma ampla variedade de agentes tem sido empregada para tal fim, como cal clorada, hipoclorito de sódio, perborato de sódio, PH e PC (Howell ²⁴ 1980). O Quadro 1 sumariza cronologicamente os principais trabalhos envolvendo a aplicação desses agentes de clareamento dental, de forma isolada ou combinada, com a aplicação ou não de calor sobre a superfície em clareamento.

O protocolo inicial, descrito como “*walking bleaching*” em 1961, envolve a colocação de uma mistura de perborato de sódio e água na câmara pulpar para realizar um clareamento interno, sendo selada pelo dentista, e controlado entre cada consulta (Spasser ²⁵ 1962). O método foi posteriormente modificado pela substituição da água pelo PH 30 a 35% para aumentar o efeito de clareamento (Nutting e Poe ²⁶ 1963).

A demonstração de que o PC causa o clareamento de dentes foi feita no final de 1960, por um ortodontista que tinha prescrito o PC 10% como antisséptico para o tratamento da gengivite (Haywood e Heymann ²⁷ 1989). Esse resultado permitiu o começo do clareamento caseiro ou “*home bleaching*” realizado durante a noite. Entretanto, essa técnica só foi descrita e publicada após 20 anos, indicando o uso do PC 10% em uma moldeira individual e resultando no clareamento dental efetivo (Haywood e Heymann ²⁷ 1989).

Quadro 1. Cronologia e detalhamento dos estudos científicos envolvendo o clareamento dental

ANO	AUTOR(ES)	DESCRIÇÃO
1850	Dwinelle	Recomendava o uso da cal clorada como agente clareador em dentes não-vitais
1862	Atkinson	Preconização do clareamento dental com ácido oxálico

1864	Truman	Uso de diferentes tipos de agentes clareadores, hipoclorito de sódio, perborato de sódio e PH
1877	Chapple	Primeiro relato de publicação sobre o clareamento dental usando ácido oxálico
1878	Taff e Atkinson	Uso do hipoclorito de sódio como agente clareador, solução clorada (solução de Labarraque)
1884	Harlan	Primeiros trabalhos do uso do PH como agente clareador, denominado dióxido de hidrogênio
1889	Kirk	Uso de corrente elétrica para a catalisação do processo de clareamento dental
1893	Kirk	Utilização de peróxido de sódio
1895	Garretson	Relato de aplicação de hipoclorito de sódio como agente clareador em dentes não-vitais
1911	Ressental	Emprego da luz ultravioleta durante o clareamento dental
1918	Abbot	Primeiro autor que introduziu o PH 37% como agente clareador, ativado com luz e calor
1951	Pearson	Estudos sobre clareamento dental em dentes não-vitais
1967	Nutting e Poe	Introdução da técnica (<i>walking bleach</i>) empregando PH a 30% misturado com perborato de sódio
1984	Zaragoza	Introdução do clareamento dental nas duas arcadas simultaneamente com PH a 70% e calor
1984	Putter e Jordan	Corroboração da eficácia do clareamento externo em dentes não-vitais com PC
1987	Feinman	PH a 35% com lâmpada de comprimento de onda longo

1989	Haywood e Heyman	Descrição da técnica de clareamento caseiro (<i>home bleaching</i>) com moldeira durante a noite, utilizando um gel de PC 10 % durante 7 a 15 dias
------	------------------	--

2.2. AGENTES CLAREADORES: USOS E AÇÕES

A maioria dos sistemas de clareamento dental contemporâneos envolve o uso do PH ou do PC, em diferentes concentrações e formas de aplicação. Esses compostos apresentam semelhança química e, por meio de reações, promovem a liberação de radicais livres, oxigênio e água, quando aplicados na superfície dentária. Diversos trabalhos têm sido conduzidos, por meio de testes *in vitro* e *in vivo*, com o propósito de comparar o efeito desses agentes de clareamento dental (Kihn et al. ²⁸ 2000; Basting et al. ²⁹ 2003). Existem relatos na literatura de que o PC a 10% equivale ao PH a 3,6% (Berga-Caballero et al. ³⁰ 2006). Entretanto, embora o PH promova um maior efeito de clareamento dental em concentrações mais reduzidas, tem sido comprovado que esse agente, em altas concentrações, produz maior sensibilidade dental e danos na superfície dentária (Hewlett ³¹ 2007; Pashley et al. ³² 2008).

A procura por parte dos pacientes pelos procedimentos de clareamento dental tem sido aumentada. Com isso, um rápido desenvolvimento de produtos e de técnicas para a aplicação dos mesmos tem sido observado (Nathoo et al. ³³ 2002). Alkhatib ³³ (2005) demonstraram que, no Reino Unido, de 12,1 a 15,5% dos pacientes em tratamento odontológico estavam insatisfeitos com sua aparência dental e que, de 17,9 a 21,3%, estavam descontentes com a cor dos dentes. Odioso ³⁵ (2000) relataram que, nos Estados Unidos, 34% dos pacientes incluídos em seu estudo se mostraram insatisfeitos com a cor dos dentes. Na China, em estudo semelhante envolvendo pacientes de regiões urbanas, esse valor foi de 52,6% (Xiao et al. ³⁶ 2007).

A pigmentação dos dentes pode variar de acordo com diferentes parâmetros: etiologia, aspecto, localização, gravidade e adesão à estrutura dental. A cor dos dentes é influenciada por uma combinação de fatores intrínsecos e pela

presença de manchas extrínsecas na superfície dental (Watts e Addy ³⁷ 2001; Joiner ³⁸ 2004).

A pigmentação intrínseca é decorrente da incorporação de materiais cromogênicos na dentina e no esmalte, durante a odontogênese ou após a erupção dental. Além disso, esse tipo de pigmentação está relacionado à dispersão da luz sobre a superfície dental e a sua absorção no esmalte e na dentina. Como o esmalte é relativamente translúcido, permitindo a passagem da luz para a dentina, é justamente esta região que desempenha um papel importante na determinação da cor dental intrínseca. A exposição a níveis elevados de flúor, tetraciclina, além da ocorrência de distúrbios do desenvolvimento e de traumas dentais, são fatores importantes na alteração da cor dos dentes durante a odontogenia. Após a erupção, o desgaste da estrutura dental, a deposição de dentina secundária devido ao envelhecimento ou como resultado de inflamação da polpa e a esclerose da dentina afetam as propriedades de transmissão de luz dos dentes, o que resulta em um escurecimento gradual dos mesmos (Watts e Addy ³⁷ 2001).

A pigmentação extrínseca tende a se formar em áreas dentais de difícil acesso e limpeza (Macpherson et al. ³⁹ 2000), podendo ser decorrente da ingestão de alimentos e de bebidas com propriedades cromogênicas, como: beterraba, cenoura, uva, café, chá, vinho, entre outros. Além disso, o hábito do tabaco, alguns medicamentos, como a clorexidina e sais de metais contendo estanho e ferro, e o acúmulo de resíduos alimentícios podem acarretar manchas extrínsecas nos dentes (Watts e Addy ³⁷ 2001; Nathoo ⁴⁰ 1997).

O clareamento dental pode ser efetuado tanto em dentes vitais como em dentes não-vitais. Em dentes vitais, é realizado por meio da aplicação de agentes clareadores externos, quer seja por meio da técnica de clareamento caseiro (*home bleaching*), a qual, usualmente, é feita com o PC ou PH, em baixas concentrações, empregando moldeiras individuais, ou em consultório (*in-office bleaching*), utilizando o PH ou o PC em altas concentrações, sendo o processo constantemente monitorado pelo dentista. De forma alternativa, é possível combinar as duas técnicas de clareamento, *home/in-office bleaching*, maximizando os resultados. Para os dentes não-vitais, geralmente, o procedimento envolve o uso de agentes clareadores aplicados internamente na câmara dental (Dahl e Pallesen ⁴¹ 2003).

2.3. PROCESSO DE CLAREAMENTO DENTAL

O processo de clareamento dental ocorre quando o agente de clareamento entra em contato com a superfície dental e promove a desestruturação de moléculas cromóforas e/ou pigmentares (Tredwin et al. ⁴² 2006). Esses pigmentos são, em geral, compostos orgânicos de cadeia longa, apresentando ligações simples e duplas, com diferentes radicais e grupamentos químicos (Wiley e Sons ⁴³ 1992).

2.4. MECANISMO DE AÇÃO DOS AGENTES CLAREADORES

Os peróxidos apresentam diferentes reações químicas, dependendo das condições sob as quais são submetidos, como: mudança de temperatura, pH, luz e presença de metais de transição. Sob condição alcalina, o PH pode ser convertido em duas unidades de hidroxila radical livre ($2\text{HO}\bullet$). Outras condições podem dar origem à formação de radicais livres diversos, como, por exemplo, a clivagem homolítica de uma ligação O–H, tendo como resultado os radicais livres $\text{H}\bullet$ (hidrogênio radical livre) e $\text{HOO}\bullet$ (radical hidroperoxila) (Dahl e Pallesen ⁴¹ 2003). Esses radicais livres são capazes de receber elétrons livres dos pigmentos, alterando as suas estruturas químicas e, como consequência, eliminando o seu caráter cromóforo.

Por meio da aplicação de algumas fontes de luz, tem sido demonstrada uma maior formação de radicais hidroxila, a partir do PH, o que aumenta a sensibilidade dental (Kashima-Tanaka et al. ⁴⁴ 2003). Entretanto, ao ser formada uma maior concentração de radicais livres, esses intermediários químicos podem interferir negativamente nas estruturas dentais, alterando a sua composição e removendo compostos orgânicos (Kashima-Tanaka et al. ⁴⁴ 2003; Chen et al. ⁴⁵ 1993; Attin et al. ⁴⁶ 2009).

Na literatura, tem sido referenciado que existe uma difusão do peróxido através do esmalte, pela interface esmalte-dentina e na dentina propriamente dita. Entretanto, estudos *in vitro* mostraram uma reduzida penetração do peróxido na câmara pulpar (Slezak et al. ⁴⁷ 2002; Thitinantapan et al. ⁴⁸ 1999; Gokay et al. ⁴⁹ 2005). Mas, mesmo a penetração sendo baixa, os níveis de peróxido nessa região são suficientes para produzir uma irritação da polpa dental, sem inibir a

sua atividade enzimática (Joiner e Thakker ⁵⁰ 2004; Soares et al. ⁵¹ 2013). É importante ressaltarmos que o PH é o composto químico principal do PC, o qual é composto em parte por PH e ureia, e a degradação do mesmo gera PH e ureia.

2.5. EFEITOS SECUNDÁRIOS DO CLAREAMENTO DENTAL

Muitos estudos *in vitro* têm avaliado os potenciais efeitos dos agentes clareadores no esmalte dental humano (Costa et al. ⁵² 2010) sumarizados na Tabela 1. As propriedades ácidas (pH), a concentração e a baixa massa molecular dos agentes clareadores podem levar a mudanças no conteúdo mineral do esmalte, causando alterações morfológicas no mesmo. Entretanto, como o PH penetra através do esmalte, principalmente como resultado de sua baixa massa molecular, pode desnaturar essas proteínas, o que aumenta o movimento de íons através da estrutura dentária, promovendo aumento da porosidade e perda de substâncias da matriz do esmalte, como resultado da atividade dos radicais livres (Goldstein et al. ⁵³ 1989; Hanks et al. ⁵⁴ 1993; Hegedus et al. ⁵⁵ 1999; Benetti et al. ⁵⁶ 2004; Bitter ⁵⁷ 1998).

Efeitos secundários decorrentes do uso de Agentes Clareadores
Sensibilidade Dentária
Diminuição da Dureza superficial do esmalte dental
Alterações na Rugosidade superficial do esmalte dental
Degradação da estrutura mineral do esmalte dental
Alterações morfológicas do esmalte dental

Tabela 1. Efeitos Secundários decorrentes do uso de Agentes Clareadores.

Uma das maiores preocupações sobre o clareamento dental refere-se à penetração do peróxido através do esmalte e da dentina, que possa chegar a atingir a polpa, provocando alterações na mesma e sensibilidade dental (Bowles e Ugwuneri ⁵⁸ 1987; Cooper et al. ⁵⁹ 1992). No entanto, os efeitos da penetração do peróxido ainda são contraditórios (Thitinanthapan et al. ⁴⁸ 1999; Hanks et al. ⁵⁴ 1993; Hegedus et al. ⁵⁵ 1999; Benetti et al. ⁵⁶ 2004; Cooper et al. ⁵⁹ 1992; Gokay et al. ⁶⁰ 2004). Reações celulares na polpa, como processos inflamatórios, são comuns

durante os tratamentos de clareamento dental, embora a maioria dos estudos considere que essas reações são reversíveis, principalmente quando os agentes clareadores são utilizados por meio de procedimentos adequados (Soares et al.⁵¹ 2013; Benetti et al.⁵⁶ 2004; Nathanson⁶¹ 1997). Porém, mesmo se os efeitos são reversíveis, é importante ressaltar que eles existem, sendo isso comprovado por (Thitinanthapan et al.⁴⁸ 1999), que demonstraram que a penetração do PH na polpa pode resultar em diferentes intensidades de sensibilidade, dependendo do agente clareador a ser usado.

Em geral, é definido que o uso do PH em concentrações elevadas, na forma de gel ou em tiras, tem como consequência uma maior penetração de peróxido na polpa dental (Thitinanthapan et al.⁴⁸ 1999; Benetti et al.⁵⁶ 2004; Sulieman⁶² 2004). Estudos anteriores (Kashima-Tanaka et al.⁴⁴ 2003; Slezak et al.⁴⁷ 2002; Sulieman⁶² 2004) têm demonstrado que, após a aplicação de géis clareadores e soluções que contenham PH ou PC, os compostos resultantes desses produtos se difundem através da superfície coronária dos dentes para dentro da polpa dental, o que pode resultar em uma pulpite reversível (Gokay et al.⁶⁰ 2004; McCaslin et al.⁶³ 1999).

A inflamação e a dor dental estão intimamente ligadas (Kim⁶⁴ 1990). Se os procedimentos de clareamento dental resultaram em danos ao tecido pulpar, em seguida, haverá uma liberação de fatores, como ATP e prostaglandinas, que irão excitar ou sensibilizar os nociceptores pulpares (Goodis et al.⁶⁵ 2000; Cook e McCleskey⁶⁶ 2002). A ativação de nociceptores leva à liberação de peptídeos vasoativos na vizinhança das vesículas de sangue pulpar. A observação de que certos procedimentos de clareamento aumentam a expressão da substância-P na polpa (peptídeo vasoativo) indica que a inflamação neurogênica desempenha um papel na sensibilidade decorrente do clareamento dental (Caviedes-Bucheli et al.⁶⁷ 2008).

2.6. TRATAMENTO DA HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA RESULTANTE DO CLAREAMENTO DENTAL

Atualmente, medidas têm sido adotadas para melhorar os efeitos secundários do clareamento dental, adicionando componentes dessensibilizantes às formulações, sem interferir na eficácia do tratamento, tendo como resultado a

diminuição na sensibilidade pós-procedimento (Armênio ⁶ 2006).

Em geral, existem duas alternativas terapêuticas para a redução da hipersensibilidade dentária decorrente do clareamento dental. Os agentes que obliteram os túbulos dentários e os agentes que diminuem a excitabilidade dos nervos dentais, que podem ser empregados de forma isolada ou concomitante (Hewlett ³¹ 2007; Pashley et al. ³² 2008; Markowitz ⁶⁸ 1993). O profissional deve estar atento à presença de hipersensibilidade pré-existente. Nesse sentido, pode recomendar o uso de agentes dessensibilizantes caseiros ou o emprego de dessensibilizantes adicionados aos géis clareadores (Hewlett ³¹ 2007).

Os componentes mais utilizados como agentes dessensibilizantes durante o clareamento dental são: fluoreto de sódio e nitrato de potássio (Armênio ⁶ 2006; Kihn et al. ²⁸ 2000), embora outros compostos químicos também possam ser usados.

2.6.1. Agentes Dessensibilizantes

Os mecanismos hidrodinâmicos da sensibilidade dentinária oferecem uma base ao desenvolvimento de terapias dessensibilizantes, os câmbios de pressão na câmara pulpar e na dentina resultam na sensibilidade dentinária. Em geral, os agentes dessensibilizantes podem interromper a sequência hidrodinâmica por diversas ações (Orchardson e Gillam ⁶⁹ 2006), como sintetizadas no Quadro 2.

Quadro 2. Classificação dos agentes dessensibilizantes dentinários, segundo o mecanismo de ação

Mecanismo de ação dessensibilizante	Exemplo de dessensibilizante dentinário
Dessensibilização nervosa	Nitrato de potássio
Precipitação de proteínas	Glutaraldeído Nitrato de prata Cloreto de zinco Cloreto de estrôncio
Obliteração de túbulos dentinários	Fluoreto de sódio Fluoreto estânico Cloreto de estrôncio Oxalato de potássio

Continuação Quadro 2

	Fosfato de cálcio Carbonato de cálcio Cerâmica de vidro bioativa ($\text{SiO}_2\text{--P}_2\text{O}_5\text{--CaO--Na}_2\text{O}$)
Selamento	Vernizes fluoretados Ácido oxálico e resina Cimentos de ionômero de vidro Compósitos Adesivos dentários
Emissão estimulada de radiação	Laser de neodímio-ítrio alumínio granada (Nd-YAG) Laser de arsenieto de gálio e alumínio (GaAlAs) Laser érbrio-ítrio alumínio granada (Er-YAG)
Fitoterápico	Própolis

Fonte: (Miglani et al.⁷⁰ 2010)

Todos os fatores antes mencionados têm por propósito atingir o equilíbrio hidrodinâmico, normalizando a permeabilidade dentária e mantendo a pressão estável (Orchardson e Gillam⁶⁹ 2006).

2.6.2. Principais dessensibilizantes dentinários incorporados nos agentes clareadores

Na atualidade, diferentes materiais dessensibilizantes têm sido incorporados nos sistemas clareadores, na tentativa de diminuir o efeito adverso de hipersensibilidade durante e após o tratamento de clareamento dental.

2.6.2.1. Flúor

A incorporação de sais de fluoreto nos géis clareadores tem como finalidade limitar a permeabilidade dos agentes clareadores pelo complexo dentino-pulpar, por meio da obliteração dos túbulos dentinários decorrente da formação de hidroxiapatita fluoretada (HaPF) o que reduz a sensibilidade pós-clareamento dental. Essa estratégia é baseada na evidência científica de que os enxaguatórios fluoretados remineralizam o esmalte, causando um incremento na resistência à desmineralização, sem provocar nenhuma interferência na ação dos peróxidos

(Cavalli et al. ⁸ 2011).

2.6.2.2. Fosfato de cálcio amorfo (ACP)

O ACP, incorporado nas formulações para o clareamento dental, é um agente que promove a diminuição dos efeitos secundários, tentando diminuir assim a sensibilidade dentinária, por meio do bloqueio dos túbulos dentinários, da correção de defeitos superficiais no esmalte ou na dentina (Vasconcelos et al. ⁴ 2012; Borges et al. ⁵ 2013; Matis et al. ⁷ 2007; Cavalli et al. ⁸ 2011).

2.7. CERÂMICAS BIOATIVAS

As cerâmicas de vidro foram descobertas e introduzidas no âmbito médico e biológico em 1973 por Hench, como materiais para melhorar as superfícies de implantes ortopédicos e promover a osseointegração. Com o desenvolvimento de diferentes biomateriais, entre eles as cerâmicas bioativas, foi possível caracterizar o Bv 45S5 (composto por Na_2O , CaO , P_2O_5 e SiO_2) e estudar a formação da apatita, resultante da interação de células osteoprogenitoras com a superfície do Bv. Além disso, foi avaliada a viabilidade celular desses novos produtos, classificando as cerâmicas vítreas como materiais biocompatíveis (Hench ¹⁰ 1991; Bakry et al. ¹¹ 2011).

2.7.1. Biovidros

Os Bvs são cerâmicas bioativas terciárias, estes materiais possuem uma variedade de características e de propriedades, ainda não totalmente conhecidas na medicina. Diferentes trabalhos têm indicado que o Bv é capaz de interagir com os meios biológicos em diferentes condições, como a mencionada capacidade osteoprogenitora em enxertos, além de apresentar viabilidade celular, de permitir facilmente a adesão celular na sua superfície, de possuir capacidade antibacteriana, de ocluir túbulos dentinários e de ser um agente passível de promover a remineralização dentária (Hench ¹⁴ 2006).

Farmakis et al. ⁷¹ (2012) demonstraram, por meio de um estudo *in vitro*, que aplicação de Bv (NovaMin, Densshield; Novamin Technology, Alachua,

FL) na superfície dentária, com túbulos dentinários expostos de 20 µm, promoveu uma oclusão de 35 até 75% dessas estruturas.

Atualmente, o uso de Bv no tratamento da hipersensibilidade dentinária vem sendo observado no mercado, sendo possível citar o produto comercial NovaMin (NovaMin Technology, FL, EUA), o qual contém Bv. O componente básico do Bv é a sílica, a qual atua na nucleação e na precipitação de íons de cálcio e de fosfato, resultando na formação de uma camada de HaP, a qual pode reparar a estrutura dentinária (Gillam et al. ¹² 2002; Forsback et al. ¹³ 2004) e promove a sua remineralização (Hench ¹⁴ 2006). Entretanto, a partir da literatura consultada, é importante ressaltar que não há relatos sobre o uso do Bv *in vitro* e *in vivo* na incorporação das partículas no tratamento de clareamento dental.

2.8. HIDROXIAPATITA

As nanopartículas de HaP são consideradas importantes materiais biocompatíveis e bioativos, os quais têm ganhado o reconhecimento e aceitação no campo da Medicina e da Odontologia na atualidade (Huang et al. ¹⁸ 2010). A HaP é amplamente usada na substituição óssea e na superfície de implantes dentais (Huang et al. ⁷² 2009). Nos últimos anos, a HaP foi introduzida na odontologia como material remineralizante no revestimento de raízes de dentes e de dentina exposta (Zhao et al. ⁷³ 2008).

A morfologia, a composição química e a compatibilidade das nanopartículas de HaP têm semelhança muito grande com os cristais de apatita do esmalte dos dentes (Vandiver et al. ¹⁷ 2005), o que faz dela um material com grande aceitação no campo odontológico (Li et al. ⁷⁴ 2008). Recentemente, alguns relatos comprovaram as propriedades remineralizantes também no esmalte dental (Huang et al. ¹⁸ 2010; Kim et al. ¹⁹ 2007; Orsini et al. ²⁰ 2010; Yamagishi et al. ²¹ 2005; Huang et al. ⁷² 2009).

Yamagishi *et al.* ²¹ (2005) estudaram o efeito de nanopartículas de HaP com tamanho de 20 nm, as quais ofereceram uma excelente capacidade de remineralização do esmalte, quando o mesmo foi submetido a um condicionamento ácido. Alguns relatos também confirmaram o potencial remineralizante da HaP, dependendo da concentração em massa do biomaterial em contato direto com o esmalte dental (Li et al. ⁷⁴ 2008). Além disso, Onuma et al. ⁷⁵ (2005) relataram as

modificações superficiais do esmalte dental com o uso de uma nova pasta dental à base de HaP, desenvolvida com a finalidade de remineralizar lesões cariosas primárias.

Portanto, o resultado da remineralização do esmalte ou de outras estruturas do dente por meio do uso da HaP depende do método usado, assim como da porcentagem de material, do protocolo de aplicação, do pH, entre outros fatores (Huang et al. ⁷² 2009).

2.9. EFEITO CLAREADOR NO ESMALTE DENTAL E ALTERAÇÕES NA RUGOSIDADE, MICRODUREZA, MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

2.9.1. Estudos avaliando a rugosidade superficial

Diferentes tipos de peróxidos e concentrações podem ser usados na odontologia, assim como, diferentes tempos e técnicas de aplicações (Martin et al. ¹ 2010; Abouassi et al. ² 2011; Cadenaro et al. ⁷⁶ 2008; Faraoni-Romano et al. ⁷⁷ 2008; Cadenaro et al. ⁷⁸ 2010; Azrak et al. ⁷⁹ 2010).

Embora esses agentes clareadores sejam altamente efetivos gerando um clareamento dos dentes, podem ocasionar alguns efeitos secundários na estrutura dentária, como a alteração da rugosidade superficial do esmalte dental (Martin et al. ¹ 2010; Abouassi et al. ² 2011; Azrak et al. ⁷⁹ 2010).

Tem sido demonstrado na literatura que o PH em altas concentrações pode acarretar um aumento da rugosidade superficial do esmalte dental após seu uso (Azzrak et al. ⁷⁹ 2010), assim como o PC (Martin et al. ¹ 2010; Abouassi et al. ² 2011). Faraoni-Romano et al. ⁷⁷ (2008) estudaram as alterações na rugosidade superficial do esmalte e dentina, antes e após aplicação de diferentes agentes clareadores em diferentes concentrações, relatando que a superfície da dentina tratada com PH 38% apresentou um maior aumento da rugosidade superficial, gerando a modificação no conteúdo orgânico da estrutura do esmalte dental.

Alguns trabalhos *in vivo* também relataram alterações morfológicas e mudanças na rugosidade superficial da estrutura dental (Hegedus et al. ⁵⁵ 1999;

Pedreira De Freitas et al.⁸⁰ 2011; Pedreira de Freitas et al.⁸¹ 2010; Varanda et al.⁸² 2013). As avaliações foram conduzidas antes, durante e após aplicação de agentes clareadores, com e sem o condicionamento com ácido fosfórico 37% na superfície do esmalte dental. Foi observado que os dentes que receberam apenas o clareamento não apresentaram alterações significativas na morfologia ou rugosidade superficial do esmalte dental, quando comparados com os dentes tratados com o condicionamento ácido fosfórico 37%, o qual promoveu uma maior modificação da morfologia e da rugosidade superficial (Cadenaro et al.⁷⁶ 2008; Cadenaro et al.⁷⁸ 2010).

Os peróxidos podem ter comportamentos diversos, gerando diferentes tipos de radicais livres, em presença de diferentes valores de pH (Azrak et al.⁷⁹ 2010). Os géis mais ácidos promovem uma maior produção de radicais hidroxila, fazendo com que o esmalte dental sofra um ataque mais direto, causando certo tipo de desnaturalização proteica do seu conteúdo orgânico, o que aumenta o movimento de íons através da estrutura dentária, promovendo assim a elevação da porosidade e a perda de substâncias da matriz do esmalte, como resultado da atividade desses radicais livres (Goldstein et al.⁵³ 1989; Hanks et al.⁵⁴ 1993; Hegedus et al.⁵⁵ 1999; Benetti et al.⁵⁶ 2004; Bitter⁵⁷ 1998). Nesse sentido, diferentes autores relataram que as alterações morfológicas e de rugosidade superficial estão diretamente relacionadas com a concentração dos agentes clareadores, seu pH e o seu tempo de contato com a superfície dental (Martin et al.¹ 2010; Azrak et al.⁷⁹ 2010).

Martin et al.¹ (2010) relataram que o uso do flúor, concomitantemente ao gel de clareamento dental, diminuiu o efeito secundário de rugosidade superficial do esmalte dental, quando comparado com os grupos que só continham PH 35% ou PC 16%, os quais promoveram uma maior rugosidade da superfície do esmalte após o clareamento. Esses autores concluíram que o uso dos agentes clareadores sem a presença de flúor na sua composição acarretou mudanças significativas na rugosidade da superfície do esmalte dentário, sendo que ambos os tratamentos tópicos contendo flúor foram eficazes, pois mitigaram o efeito secundário de rugosidade da superfície do esmalte, após o procedimento de clareamento dental.

O uso de biomateriais na Odontologia atual tem sido uma tendência amplamente aceita pela comunidade científica. Nesse sentido, a incorporação de

biomateriais na composição de diferentes materiais odontológicos, dentre os quais, os agentes clareadores, é aceita e oferece resultados favoráveis, uma vez que os biomateriais podem diminuir os efeitos secundários na superfície do esmalte dental.

Tentando diminuir os efeitos secundários decorrentes do uso de sistemas clareadores, o ACP forneceu bons resultados quando associado a géis clareadores, sem interferir na sua eficácia clareadora e reduzindo os efeitos secundários em estudos *in vitro* (Vasconcelos et al. ⁴ 2012). Abreu et al. ³ (2011) mostraram a eficácia da incorporação de partículas de ACP em diferentes concentrações de PH, na comparação da rugosidade superficial e da microdureza do esmalte. Esses autores observaram que concentrações de PH 35% ou PC 38% promoveram um aumento da rugosidade superficial e uma diminuição na microdureza do esmalte, diferente do PH 7,5 e 9,5% que continham partículas de ACP, os quais forneceram valores semelhante de rugosidade superficial e microdureza, antes e após o tratamento clareador (Abreu et al. ³ 2011).

2.9.2. Estudos avaliando a dureza superficial e alterações na morfologia do esmalte

Como explicado anteriormente, existem diferentes tipos de agentes clareadores usados na Odontologia, sendo os mais comuns o PH e o PC, em diferentes concentrações e indicações de uso. Geralmente, o uso de PC, em diferentes concentrações, é empregado no clareamento caseiro, sendo que a indicação depende do pH e da concentração do clareador no gel, com períodos de aplicação entre 1 e 8 h (Oliveira et al. ⁸³ 2005). Diferente do PC, o PH geralmente está associado ao uso em consultório, com a supervisão do cirurgião dentista. Esses géis clareadores têm um tempo de uso que varia entre 20 e 60 min, podendo ser feitas diferentes aplicações no mesmo dia ou aplicações em dias diferentes (Grobler et al. ⁸⁴ 2009; Majeed et al. ⁸⁵ 2008; Borges et al. ⁸⁶ 2009). Esse tempo de aplicação dos agentes clareadores está diretamente relacionado à concentração e ao tipo de gel usado (Attin et al. ⁴⁶ 2009).

A literatura tem demonstrado que o uso do PC em concentrações entre 10 e 20%, mesmo destinado ao uso caseiro, sob monitoramento do cirurgião dentista, pode gerar maior perda mineral do esmalte dental, como consequência do maior tempo de contato do tratamento, afetando negativamente os valores de

microdureza e gerando alterações morfológicas na superfície dental (Oliveira et al.⁸³ 2005; Grobler et al.⁸⁴ 2009; Majeed et al.⁸⁵ 2008; Araujo et al.⁸⁷ 2013).

O PH, em concentrações entre 10 a 35% para uso em consultório, está relacionado a um maior ataque químico e à perda mineral do esmalte dental, afetando a microdureza e a morfologia dental (Grobler et al.⁸⁴ 2009; Majeed et al.⁸⁵ 2008; Araujo et al.⁸⁷ 2013; Magalhaes et al.⁸⁸ 2012).

Um dos maiores problemas, segundo estudos encontrados, está relacionado ao uso de agentes clareadores com pH ácido, o qual promove uma elevação da perda de minerais da estrutura do esmalte dental, afetando assim a microdureza superficial e ocasionando alterações morfológicas da superfícies do dente (Attin et al.⁴⁶ 2009; Azrak et al.⁷⁹ 2010; Araujo et al.⁸⁷ 2013; Magalhaes et al.⁸⁸ 2012).

A associação de partículas de cálcio, flúor (Oliveira et al.⁸³ 2005) ou CPP-ACP (Mi paste) (Vasconcelos et al.⁴ 2012) podem diminuir os efeitos secundários adversos dos sistemas clareadores, no que diz respeito à composição mineral e às características de superfície do esmalte dental (Vasconcelos et al.⁴ 2012).

Diferentes estudos têm avaliado a morfologia e a rugosidade superficial do esmalte dental ou de materiais restauradores, após o uso de agentes clareadores. Esses estudos destacaram que os agentes clareadores contendo concentrações de PH entre 20 e 38% promoveram mudanças morfológicas e de rugosidade superficial na superfície dental (Pedreira De Freitas et al.⁸⁰ 2011; Pedreira de Freitas et al.⁸¹ 2010), assim como alterações morfológicas nas resinas micro-híbridas (Varanda et al.⁸² 2013). Outros trabalhos relataram que o uso de partículas de ACP na composição dos géis clareadores podem diminuir a perda mineral do esmalte dental após o clareamento dental (Abreu et al.³ 2011; Vasconcelos et al.⁴ 2012).

2.10. DIFUSÃO DOS AGENTES CLAREADORES

Para medir a permeabilidade do PH até a câmara pulpar, alguns aspectos específicos têm que ser levados em consideração, como o tipo de agente clareador a ser usado, assim como a concentração do mesmo, tempo de aplicação, pH do gel, características estruturais e morfológicas do dente, uso ou não de vernizes dessensibilizantes, presença e/ou ausência de restaurações nos dentes, entre outros. Esses fatores, isolados ou em conjunto, possuem uma direta relação com a penetração de agentes clareadores na câmara pulpar (Thitinanthapan et al.⁴⁸ 1999; Hanks et al.⁵⁴ 1993; Benetti et al.⁵⁶ 2004; Cooper et al.⁵⁹ 1992; Gokay et al.⁶⁰ 2004; Magalhaes et al.⁸⁸ 2012; Gökay et al.⁸⁹ 2000; Hannig et al.⁹⁰ 2011; Berger et al.⁹¹ 2013).

Os autores precursores na investigação da permeabilidade do PH até a câmara pulpar foram Bowles e Ugwuneri⁵⁸ (1987). Subsequentemente, vários pesquisadores têm relatado a passagem de PH para a câmara pulpar após o clareamento dental, tentando explicar a permeabilidade do PH até a câmara pulpar e suas possíveis interações com os tecidos duros e/ou estruturas celulares do órgão dental, assim como a sua resposta celular (Arwill et al.⁹² 1969; Crim⁹³ 1992; Oliveira-Duque et al.⁹⁴ 2013).

Duas metodologias têm sido descritas e usadas para análise do PH na câmara pulpar, permitindo testar, assim, a permeabilidade de agentes clareadores. A primeira, foi preconizada por Mottola⁹⁵ (1970), por meio do uso do leucocristal violeta como reagente oxidante do PH residual que atinge a câmara pulpar após o clareamento dental, fazendo com que uma cor azul seja gerada após a reação, sendo que cores mais escuras decorrem de maior quantidade de PH. A outra metodologia foi proposta por Bauminger⁹⁶ (1974), a finalidade é a mesma, de quantificar as concentrações de PH que atingem a câmara pulpar, diferindo uma da outra pelo reagente usado. O reagente é à base de 4-aminoantipirina e fenol. As duas metodologias conseguem determinar de maneira exata a quantidade de PH presente na solução do tampão de acetato 4 M com pH 4,5, a qual é depositada na câmara pulpar para capturar as moléculas de PH que atingem a câmara após o clareamento dental.

Alguns relatos feitos com a primeira metodologia concluíram que há uma relação direta entre a permeabilidade resultante dos produtos clareadores

presentes no mercado e o nível de sensibilidade dental observada (Thitinanthapan et al.⁴⁸ 1999; Oliveira-Duque et al.⁹⁴ 2013). Além disso, o nível de permeabilidade está diretamente relacionado à concentração do PH ou do PC, ao tempo de aplicação dos agentes clareadores, ao pH dos géis, à temperatura aplicada e a outros fatores (Gokay et al.⁴⁹ 2005; Pugh et al.⁹⁷ 2005; Schiavoni et al.⁹⁸ 2006).

Existem relatos de que a permeabilidade do gel de PH 6% até a câmara pulpar, após os primeiros 20 min de aplicação, é três mil vezes mais baixa do que a concentração de enzimas pulpares capazes de promover sua inativação. Assim, a literatura indica que o uso de agentes clareadores em baixas concentrações podem ser empregados com segurança ao tecido dental e pulpar, sem alterações significativas (Joiner e Thakker³⁸ 2004; Pugh et al.⁹⁷ 2005; Schiavoni et al.⁹⁸ 2006).

O método proposto por Bauminger⁹⁶ (1974), e modificado posteriormente por (Hannig et al.⁹⁹ 2003; Hannig et al.¹⁰⁰ 2005; Hannig et al.¹⁰¹ 2006), tem sido amplamente usado para medir as concentrações de PH que podem permear o esmalte e atingir a câmara pulpar e também tem fornecidos resultados semelhantes ao anterior.

Torres et al.¹⁰¹ (¹⁰² 2010) estudaram a incorporação de diferentes ativadores químicos ao gel de PH. A adição de gluconato de manganês e de sulfato ferroso resultou em menores quantidades de PH permeabilizado na câmara pulpar. Outro trabalho importante presente na literatura afirma que o uso de agentes clareadores com elevadas concentrações de PH está relacionado a maiores quantidades de PH na câmara pulpar, quando comparados com grupos sem tratamento ou com menores concentrações. Esse estudo também verificou a premissa de que a aplicação de vernizes dessensibilizantes diminuem a passagem de PH até a câmara pulpar (Hannig et al.⁹⁰ 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

- Desenvolver e avaliar formulações inovadoras de gel de peróxido de carbamida contendo nanopartículas de biovidro ou hidroxiapatita para o clareamento dental em consultório.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Formular o gel de peróxido de carbamida 37,5%;
2. Sintetizar e caracterizar as nanopartículas de biovidro e de hidroxiapatita;
3. Incorporar as nanopartículas de biovidro e de hidroxiapatita ao gel de peróxido de carbamida 37,5%;
4. Estudar a morfologia, a rugosidade superficial e a microdureza Knoop do esmalte dental antes e após os tratamentos;
5. Investigar a difusão do peróxido de hidrogênio nos grupos experimentais tratados com o gel de peróxido de carbamida a 37,5%, contendo ou não nanopartículas de biovidro ou de hidroxiapatita, na câmara pulpar;
6. Avaliar a influência das nanopartículas de biovidro e de hidroxiapatita no potencial clareador do gel de peróxido de carbamida 37,5%.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1. Padronização da solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 50%

A pureza da solução de H_2O_2 adquirida do fornecedor Farmanil Quima (Curitiba, Paraná, Brasil) foi previamente verificada, utilizando-se a análise quantitativa permanganométrica. Para tanto, foi preparada uma solução de permanganato de potássio (KMnO_4) aproximadamente a 0,02 mol/L, pesando-se 3,20 g do sal e completando-se o volume, com água destilada, em balão volumétrico de 1000 mL. Após, essa solução foi devidamente padronizada, utilizando-se oxalato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$), como padrão primário, previamente dessecado em estufa por 2h a 105°C e conservado em dessecador. Uma massa de 0,1300g de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ foi pesada e, cuidadosamente, transferida para um erlenmeyer de 250 mL, juntando-se 25 mL de água destilada e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). O sistema foi aquecido até 80°C e titulado com a solução de KMnO_4 , em agitação constante, até que o conteúdo do erlenmeyer se tornasse levemente róseo, persistente por mais de 30 s. Considerando que cada mL da solução de KMnO_4 0,02 mol/L equivale a 6,6007 mg de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, calculou-se a concentração molar da solução de KMnO_4 e determinou-se o fator de correção.

Uma vez preparada e padronizada a solução de KMnO_4 , realizou-se o doseamento do H_2O_2 , transferindo-se uma alíquota de 1,00 mL da solução de H_2O_2 para um balão volumétrico de 100 mL, o qual foi completado com água destilada. Uma alíquota de 10,00 mL desta solução preparada foi colocada em um erlenmeyer de 250 mL. Em seguida, adicionou-se 10 mL de uma solução de H_2SO_4 1 mol/L, titulando-se com a solução padronizada de KMnO_4 0,02 mol/L, até que a solução adquirisse uma coloração rósea permanente. Considerando que cada mL da solução de KMnO_4 0,02 mol/L padronizada equivale a 1,701 mg de H_2O_2 , obteve-se a concentração da solução de H_2O_2 adquirida do fornecedor.

Conhecendo-se a concentração real da solução de H_2O_2 , a mesma foi padronizada para a concentração de 50%, por diluição simples, empregando água purificada por sistema de osmose reversa.

4.1.2. Obtenção dos cristais de peróxido de carbamida e manipulação do gel de peróxido de carbamida 37,5%

Esse procedimento foi desenvolvido no Laboratório de Farmacotécnica Alopática do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UEPG, utilizando técnicas de desinfecção e antissepsia preconizadas à manipulação farmacêutica.

De forma sintética, em béquer plástico, foram pesados 60,02 g de ureia e 70,85 g da solução de PH 50%, previamente padronizada. Com o auxílio de um gral e de um pistilo, a ureia foi triturada a pó, transferida para um béquer, sendo adicionado o PH e 50 mL de água ultrapura. O sistema foi aquecido em banho-maria, sem ultrapassar 35°C, até a dissolução completa da ureia. Após 24 h em repouso, protegido da luz, os cristais foram filtrados e armazenados em frasco plástico opaco, sob refrigeração (4 a 8°C).

A preparação do gel de PC 37,5%, conforme indicado no Quadro 3, foi realizada de acordo com a técnica geral de incorporação de sólidos em géis aquosos.

Quadro 3. Formulação do gel de peróxido de carbamida 37,5%

Composição	Quantidade
Gel de Carbopol EDT 2020 (DEG, São Paulo, Brasil) 2,5%	62,5%
Cristais de peróxido de carbamida 37,5%	q.s.p. 50 g

Para tanto, os cristais de PC previamente sintetizados foram triturados cuidadosamente em gral, com o auxílio de um pistilo. Após, o gel de Carbopol EDT 2020 foi adicionado. A formulação foi homogeneizada e acondicionada em seringas plásticas opacas para uso em clareamento dental. Essas seringas foram armazenadas sob refrigeração (4 a 8 °C) até a utilização.

4.2. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO (Bv)

4.2.1. Materiais

Tetraetilortosilicato (TEOS) $\geq 98\%$, nitrato de cálcio tetraidratado $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \geq 98\%$, fosfato de trietila (TEP) $\geq 98\%$, fosfato de amônio dibásico P.A. e ácido nítrico P.A.

4.2.2. Preparação das nanopartículas de cerâmica de vidro bioativa (SiO_2 - CaO - P_2O_5)

O Bv foi sintetizado por meio do procedimento típico de obtenção de nanopartículas de cerâmica de vidro bioativa terciária, empregando a relação em mol de Si:Ca:P de 66:27:7. Um total de 2,36 g de nitrato de cálcio e de 5,47 mL de TEOS foi disperso em uma solução de água e etanol (1:2 em mol). O pH da solução foi ajustado a valores entre 1 a 2 com ácido cítrico 2 mol.L^{-1} (catalisador hidrolítico) e a mistura reacional foi mantida em agitação por 60 min até uma solução transparente ser obtida (Hong et al. ¹⁰³ 2009). Em agitação vigorosa, a solução homogênea foi lentamente adicionada a 1200 mL de água deionizada amoniacal, contendo 0,33 g de fosfato de amônio dibásico, em temperatura de 25°C . Durante esse processo, o valor do pH da solução foi mantido na faixa de 10 a 12, empregando a água amoniacal. Depois da agitação por 12 h, o precipitado foi separado por centrifugação e lavado três vezes com água destilada. Finalmente, o pó branco obtido foi liofilizado e calcinado a 600°C por 2 h, tendo como padrão uma taxa de aquecimento de calcinação fixa em 3°C/min (Hong et al. ¹⁰³ 2009; El-Kady et al. ¹⁰⁴ 2012; Xia e Chang ¹⁰⁵ 2007).

4.3. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA (HaP)

4.3.1. Materiais

Nitrato de cálcio P.A. $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, ácido fosfórico P.A. $\geq 85\%$ (H_3PO_4) e hidróxido de amônio 28 a 30% PA (NH_4OH).

4.3.2. Preparação das nanopartículas de hidroxiapatita

Um volume de 150 mL de solução aquosa de nitrato de cálcio a 26,6% (m/m) foi misturado lentamente com uma solução aquosa de fosfato de amônio $[(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4]$, previamente obtida com 7 mL de H_3PO_4 , 165 mL de NH_4OH e 228 mL de água purificada, em temperatura de 50°C, durante um período de 60 minutos, em agitador magnético com aquecimento, a uma velocidade de 100 rpm. A solução resultante foi aquecida até 100°C por um período de 60 minutos, com agitação vigorosa. O gel resultante foi liofilizado por 72 h para a obtenção das nanopartículas de HaP (Sadat-Shojai et al. ¹⁰⁶ 2013).

4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO E DE HIDROXIAPATITA

4.4.1. Análise por microscopia eletrônica de varredura

A avaliação morfológica e de superfície das nanopartículas de Bv e de HaP foi realizada em microscópio eletrônico de varredura SSX-550 Superscan (Shimadzu). Três amostras foram levadas à estufa a vácuo TE 395 (Tecnal) e fixadas em suporte metálico. Após, foram submetidas à metalização com ouro no equipamento IC-50 Ion Coater (Shimadzu). As fotomicrografias foram obtidas após a visualização das amostras, empregando voltagens de aceleração de 10 ou 15 kV. O registro das imagens ocorreu por meio da utilização do *software* específico.

4.4.2. Análise por microscopia de força atômica

As análises de microscopia de força atômica (AFM) foram realizadas por meio de uma probe SPM9600 (Shimadzu Corporation) com 20 nm de raio de curvatura e cantilever de nitreto de silício (Si_3N_4) em modo de contato. O tamanho da varredura foi de 20 x 20 μm , sendo que a frequência de varredura selecionada foi de 2 Hz.

4.4.3. Determinação do diâmetro médio e do potencial zeta

O tamanho médio das nanopartículas e o índice de polidispersidade (distribuição de tamanho) foram medidos ($n = 3$) por espectroscopia de correlação de fótons, após a diluição das nanopartículas de Bv e de HaP em água purificada (1:500) (Zetasizer Nanoseries, Malvern Instruments, Reino Unido). A análise de potencial zeta ($n = 3$) foi feita no mesmo equipamento após a diluição da amostra em uma solução de cloreto de sódio a 10 mol/L (1:500).

4.4.4. Análise por difração de raios X

As nanopartículas de Bv e HaP foram examinadas em difratômetro de raio-X XRD-6000 (Shimadzu), scan de $2^\circ.\text{min}^{-1}$ e 2θ de 5 a 80° , radiação $K\alpha$ de cobre ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), corrente de 40 mA e voltagem 40 kV, para a observação de possíveis picos indicativos de cristalinidade.

4.4.5. Análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia

Os elementos químicos presentes nas nanopartículas de Bv e de HaP foram investigados por meio da espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDX), utilizando o microscópio eletrônico de varredura (Shimadzu SSX- 550 Superscan) (Oberg e Dos-Santos ¹⁰⁷ 2009).

4.4.6. Avaliação por espectroscopia na região do infravermelho

As nanopartículas de Bv e de HaP foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho, em pastilha com KBr, empregando 4 mg de cada amostra e 196 mg de KBr grau espectroscópico (2% m/m), no equipamento IR Prestige-21 (Shimadzu), 32 scans.min⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹.

4.4.7. Análise por espectroscopia Raman

As nanopartículas de Bv e HaP foram avaliadas em espectrômetro Raman (Shimadzu), com as seguintes condições analíticas: comprimento de onda do laser: 780 nm, potência máxima do laser: 2 mW, abertura da fenda: 50 µm, objetiva: 100 x e faixa espectral: 1780 a 280 cm⁻¹.

4.4.8. Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica das nanopartículas de Bv e de HaP foram estudadas por meio das curvas de termogravimetria (TGA), que foram obtidas na faixa de temperatura entre 283 K (10°C) e 1173 K (900°C). Para isso, foi empregada uma termobalança modelo TGA-50 (Shimadzu), sob razão dinâmica de nitrogênio (50 mL.min⁻¹), empregando uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, em microcadinho cilíndrico de alumina contendo aproximadamente 5 ± 0,1 mg da amostra. O equipamento foi previamente calibrado com sulfato de cobre penta-hidratado.

4.4.9. Calorimetria exploratória diferencial

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizadas na faixa de temperatura entre 303 K (25°C) e 1173 K (900°C). Foi utilizada uma célula calorimétrica DSC-60 (Shimadzu), em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL.min⁻¹), razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, sendo que a amostra (2,5 mg) foi acondicionada em cápsula de alumínio fechada. O equipamento foi previamente calibrado com índio (m.p. = 429,6 K; $\Delta H_{fusão} = 28,54 \text{ J.g}^{-1}$) e zinco (m.p. = 692,6 K).

4.5. INCORPORAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO OU DE HIDROXIAPATITA NO GEL DE PERÓXIDO DE CARBAMIDA 37,5%

O Bv e a HaP foram incorporadas no gel de PC 37,5% em concentração fixa de 5% (m/m), empregando o processo de mistura geométrica. De forma sintética, a massa total de Bv e HaP foi pesada e misturada a igual quantidade de gel. Após mistura homogênea, foi adicionada outra porção do gel em igual quantidade, até a incorporação total do mesmo.

4.6. OBTENÇÃO DOS DENTES BOVINOS

Foram selecionados 35 incisivos centrais bovinos para o experimento 1 e 80 dentes bovinos laterais para o experimento 2, uma vez que a literatura demonstra que esses dentes apresentam um comportamento similar aos dentes humanos (Meurman e Frank ¹⁰⁸ 1991). Os dentes foram obtidos do Matadouro Municipal de Ponta Grossa (Brasil), a partir de animais com idade aproximada de 3 anos, escolhendo dentes sem defeitos superficiais, defeitos congênitos, desgastes ou trincas, após a avaliação em microscópio estereoscópico.

Os dentes foram armazenados sob refrigeração, imersos em uma solução de água destilada (Maranhão et al. ¹⁰⁹ 2009) até o início dos experimentos (Borges et al. ¹¹⁰ 2011).

4.6.1. Experimento 1: Obtenção dos corpos de prova para as análises de rugosidade superficial, dureza superficial, MEV, EDX e AFM

Os 35 dentes bovinos foram cortados 3 mm abaixo da junção amelocementária com o auxílio de um disco de carbono, montado em um mandril para caneta de baixa rotação, separando a coroa da raiz. Posteriormente, foram obtidos 4 fragmentos de 3 x 3 x 2 mm de cada dente, sendo que as medidas dos CP foram conferidos empregando um paquímetro digital.

Depois do corte, os fragmentos foram visualizados em lupa estereoscópica, para observar se não possuíam irregularidades, como depressões profundas ou trincas nas suas superfícies. Os fragmentos selecionados foram imersos individualmente em resina acrílica de autopolimerização Duralay (Reliance,

Dental Mfg. Co., Worth, IL, EUA), em um tubo de PVC [poli(cloreto de vinila)] de 3 mm de altura, deixando a superfície do esmalte exposta para realizar o polimento com lixas de papel de carbeto de silício, progressivamente com granulação de 600, 1000, 1200, 1500, 2000 e feltro com pasta de polimento de 1 e 1/4 μm , sobre uma superfície lisa de vidro em uma politriz de bancada, sob água corrente, realizando movimentos lineares uniformes. O polimento foi executado por um único operador, com o intuito de obter uma padronização do procedimento. Após essa etapa, os fragmentos foram limpos durante 10 min em água corrente e, posteriormente, submetidos a 30 min de ultrassom com água deionizada (De Campo Lawder et al.¹¹¹ 2010). Considerando a necessidade de se obter um $n = 10$ CP para as análises de rugosidade e de dureza superficial para cada grupo experimental antes e após os tratamentos, sendo que desses 3 CP, foram escolhidos aleatoriamente para as análises de MEV e AFM, foram confeccionados um total de 140 CP. O protocolo acima descrito está sintetizado na Figura 1.

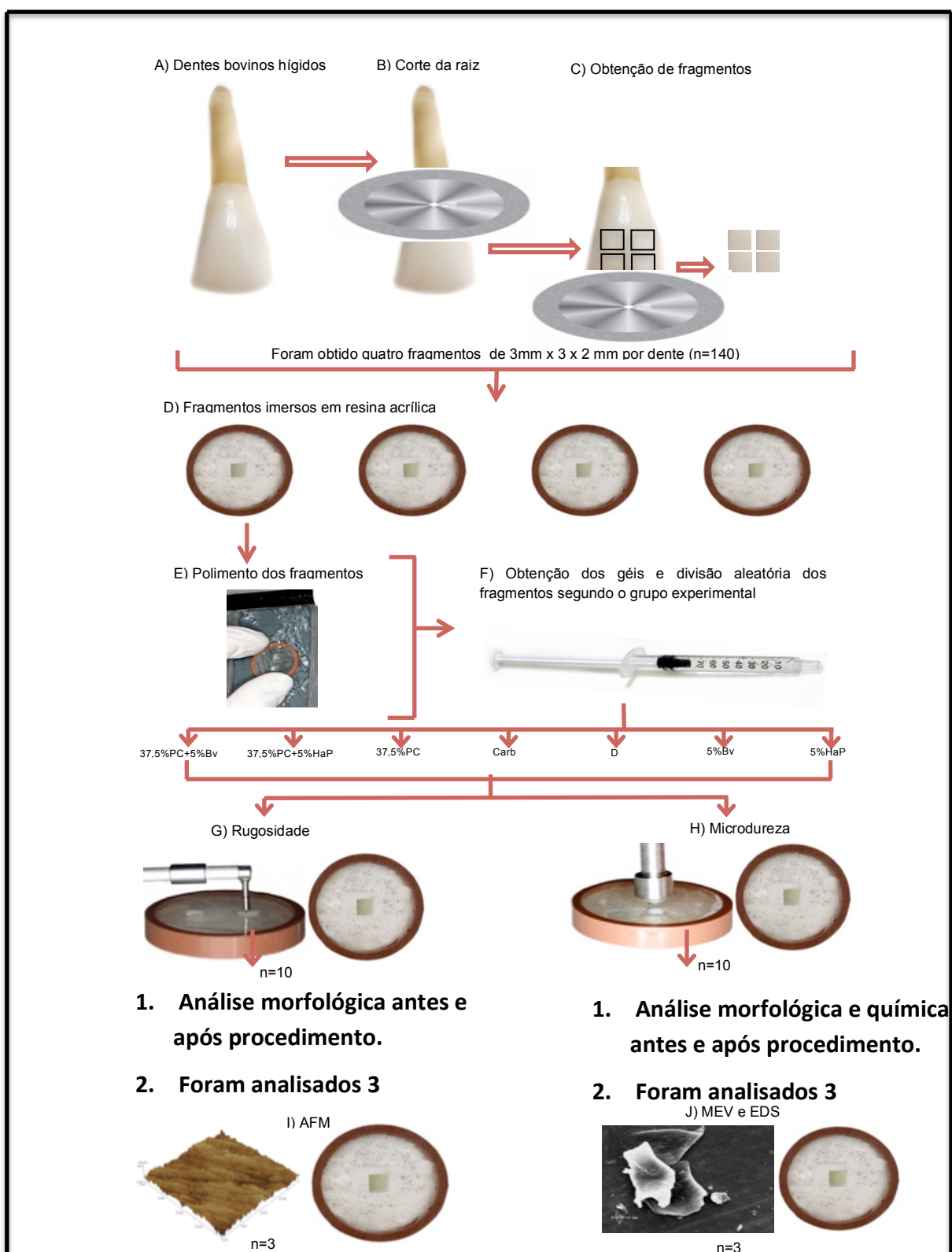


Figura 1. A- Dentes bovinos hígidos (N=35); B- Secção da raiz dos dentes para obtenção das coroas; C- Obtenção de fragmentos de esmalte de 3 x 3 x 2 mm; D- Imersão dos fragmentos em resina acrílica autopolimerizável; E-Polimento dos fragmentos com lixas de carbeto de silício; F- Distribuição aleatória por tipo de tratamento a receber; Subdivisão aleatória por tipo de ensaio; G- Rugosidade n=10 por cada grupo; H- Rugosidade n=10 por cada grupo; I- Subdivisão dos fragmentos da rugosidade para obtenção das imagens de AFM; J- Subdivisão dos fragmentos da dureza para obtenção das imagens de MED e EDS.

4.6.2. Experimento 2: Obtenção dos corpos de prova para a análise da efetividade dos agentes clareadores e permeabilidade do peróxido de hidrogênio

Foram utilizados 80 incisivos laterais bovinos hígidos, sendo que 40 foram usadas para a análise da efetividade dos géis clareadores e 40 foram usados para o teste da permeabilidade do PH até a câmara pulpar, os dentes foram obtidos também do Matadouro Municipal de Ponta Grossa (Brasil), aproximadamente do mesmo tamanho, escolhidos após observação em lupa estereoscópica para confirmar a ausência de defeitos ou microfraturas no esmalte, sendo que os mesmos foram previamente limpos e mantidos em água destilada, em refrigerador a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ após a extração e até o uso. Os dentes foram cortados sob refrigeração com água, 3 mm acima do nível da junção cemento/esmalte empregando um disco de carbono, montado em um mandril para caneta de baixa rotação, separando a coroa da raiz. Após o corte, foi retirado o tecido da câmara pulpar com o auxílio de uma broca esférica adaptada a uma caneta de alta rotação e, em seguida, procedeu-se a padronização da espessura da parede vestibular de dentina e de esmalte em $3,0 \pm 0,5$ mm, com a ajuda de um espessímetro odontológico CLP1 (Hu-Friday, Rockwell Chicago), de forma que a capacidade de armazenamento de líquido no interior da câmara pulpar fosse de 50 μL . Posteriormente, foi realizada a impermeabilização das 40 coroas de dentes selecionadas para o ensaio de permeabilidade, aplicando-se uma camada de cola de secagem rápida à base de cianocrilato (*Superbond/Loctite*) e duas camadas de esmalte de unha, deixando um quadrado livre de impermeabilização na superfície vestibular de 7 x 7 mm.

4.7. TRATAMENTOS

Os CP de 3 x 3 x 2 mm, provenientes dos dentes bovinos ($n = 10$), foram submetidos aos tratamentos sumarizados na Quadro 4. Excetuando-se o grupo branco (sem tratamento), as formulações experimentais foram aplicadas em 3 sessões, a cada 5 dias, sendo que o gel permaneceu em contato com o dente por um período total de 45 min por sessão, dividido em 3 aplicações de 15 min. Um gel de PC 37,5% sem a presença de Bv ou HaP foi empregado como controle positivo e

um gel de carbopol EDT 2020 2,5%, sem a presença de PC e sem o Bv ou HaP, foi usado como controle negativo.

Quadro 4. Tratamentos experimentais para avaliar *in vitro* o efeito das nanopartículas de Bv e HaP em gel de peróxido de carbamida 37,5%

Grupo experimental*	Descrição
37,5%PC	Grupo controle positivo: gel de carbopol EDT 2020 2,5% contendo peróxido de carbamida 37,5%
37,5%PC+5%Bv	Grupo experimental: gel de carbopol EDT 2020 2,5% contendo peróxido de carbamida 37,5%, adicionado de 5% de nanopartículas de biovidro
37,5%PC+5%HaP	Grupo experimental: gel de carbopol EDT 2020 2,5% contendo peróxido de carbamida 37,5%, adicionado de 5% de nanopartículas de hidroxiapatita
5%Bv	Grupo experimental: gel de carbopol EDT 2020 2,5% contendo 5% de nanopartículas de biovidro
5%HaP	Grupo experimental: gel de carbopol EDT 2020 2,5% contendo 5% de nanopartículas de hidroxiapatita
Carb	Grupo controle negativo: gel de carbopol EDT 2020 2,5%
D	Grupo branco: fragmento de dente sem nenhum tratamento

n = 10 fragmentos ou corpos de prova por grupo experimental

4.8. EXPERIMENTO 1: ANÁLISES MORFOLÓGICAS E QUÍMICAS DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTAL APÓS OS TRATAMENTOS

Por cada tratamento foram avaliados 3 CP. As amostras foram lavadas com 20 mL de água destilada por 15 s. Em seguida, foram levadas ao banho de ultrassom por 45 min e secas com jato de ar. Posteriormente, os CP foram

levados para a estufa por 24 h a 37°C e, na sequência, conduzidos a um dessecador a vácuo por 48 h (Oberg e Dos-Santos¹⁰⁷ 2009).

Para a análise por microscopia eletrônica de varredura, a metalização e a obtenção das imagens ocorreram conforme detalhado no item 4.4.1. As análises por espectroscopia de raios x por dispersão de energia (EDX) e por microscopia de força atômica (AFM) também foram conduzidas conforme descrito nos itens 4.4.2 e 4.4.3, respectivamente.

4.8.1. Rugosidade superficial

A rugosidade media inicial (R_a) dos CP foi verificada antes da aplicação dos tratamentos experimentais, utilizando-se um rugosímetro de contato modelo SurfTest-301, número de série 15700438 (Mitutoyo, Japão). Para realizar a medida, o equipamento possui uma ponta de diamante de alta precisão que se desloca paralelamente à superfície do CP, gerando uma curva com variação de alturas, reproduzindo com isso, exatamente os vales e picos existentes na superfície do CP. Após obter esses dados, o rugosímetro calculou o perfil médio entre os vales e picos e gerou o valor de R_a , que é a medida mais usada para a indicação da rugosidade. O rugosímetro foi calibrado pelo resultado da placa padrão em 9,50 μm para rugosidade total (R_t) e 2,95 μm para R_a , e regulado com *cut-off* de 0,25 mm, para minimizar a interferência de ondulação da superfície, e limite de medição de 1,25 mm. Foram realizadas cinco leituras distribuídas sob o CP, tendo como referência sempre a mesma direção das amostras, para obter o valor de R_a . A R_s de cada CP foi obtida calculando-se a média aritmética dos cinco valores de R_a . A R_s final foi verificada após a aplicação dos tratamentos experimentais da mesma maneira.

4.8.2. Microdureza superficial

A microdureza superficial foi avaliada pelo microdurômetro Micro Hardness tester, (Shimadzu, Kyoto, Japão), utilizando-se carga de 100 g ou 980 N durante 30 s. O valor obtido foi expresso em microdureza Knoop, sendo que o valor da microdureza superficial inicial de cada CP foi determinado pela média aritmética dos cinco valores de microdureza Knoop, obtidos antes do tratamento experimental.

Após o tratamento experimental, foi obtido o valor da microdureza superficial final de cada CP, a 100 μm de distancia das endentações iniciais.

4.9.EXPERIMENTO 2: ANÁLISES DA DIFUSÃO DO PH E ANALISE DO POTENCIAL CLAREADOR DOS TRATAMENTOS

4.9.1. Análise da difusão do PH

A permeabilidade foi investigada por meio da análise espectrofotométrica seguindo o protocolo descrito na Figura 2, a partir da reação entre a 4-aminoantipirina e o fenol com o PH, catalisada pela enzima peroxidase. A quantidade de PH foi analisada pela absorvância em um espectrofotômetro em $\lambda = 510 \text{ nm}$. O reagente enzimático foi previamente obtido, a partir de aminofenazona (4-aminoantipirina, 4 mol.L^{-1}), fenol (24 mol.L^{-1}) e peroxidasse ($0,4 \text{ U.mL}^{-1}$), dissolvidos em tampão acetato $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ a pH 4,5, sendo armazenado de 4 a 8 $^{\circ}\text{C}$. A curva analítica foi preparada como descrito na Figura 3 a partir de soluções de PH com concentrações conhecidas, permitindo quantificar a concentração de PH em cada amostra. Após 3 min de aplicação dos grupos 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv, 37,5%PC+5%HaP, e D (sem tratamento), a absorvância da solução foi mensurada e a concentração de H_2O_2 , em $\mu\text{g/mL}^{-1}$ foi calculada (Torres et al. ¹⁰² 2010).

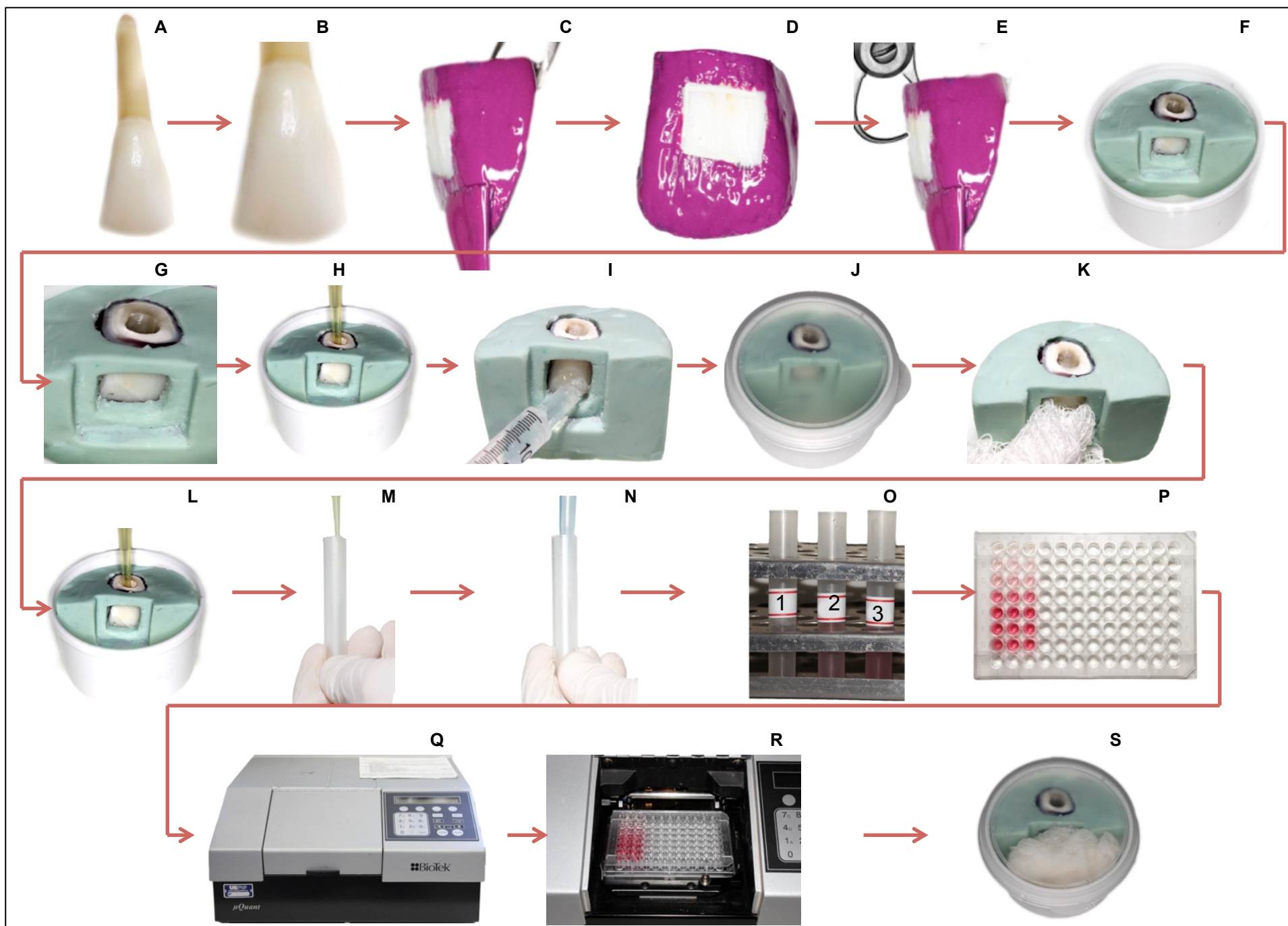


Figura 2. A- Incisivo lateral bovino hígido; B- Coroa dental seccionada $3 \pm 0,5$ mm acima da junção cimento-esmalte; C- Impermeabilização com duas

camadas de esmalte de unha; D- Área de aproximadamente 7 x 7 mm na vestibular dos dentes; E- Mensuração e padronização ($3\pm0,5$ mm) da espessura do conjunto esmalte/dentina vestibular; F- Dispositivo individualizado para contenção e armazenamento dos dentes; G- Fenestração para permitir acesso à câmara pulpar; H- Preenchimento da câmara pulpar com 50 μ L de solução tampão acetato; I- Aplicação do agente clareador sobre a superfície exposta; J- Dente com gel clareador armazenado hermeticamente durante 45 min em estufa a 37° C; K- Limpeza da superfície vestibular com gaze após o clareamento; L- Coleta da solução tampão; M- Coleta de 30 μ L de cada dente, divididos em três tubos de ensaio (10 μ L cada); N- Adição de 2 mL de reagente para cada 10 μ L de solução tampão coletada; O- Armazenamento da triplicata em estufa por 5 min; P- Coleta de 200 μ L de cada tubo de ensaio para uma placa de 96 poços; Q e R- Leitura em espectrofotômetro a 510 nm; s- Armazenamento em umidade relativa com saliva artificial.

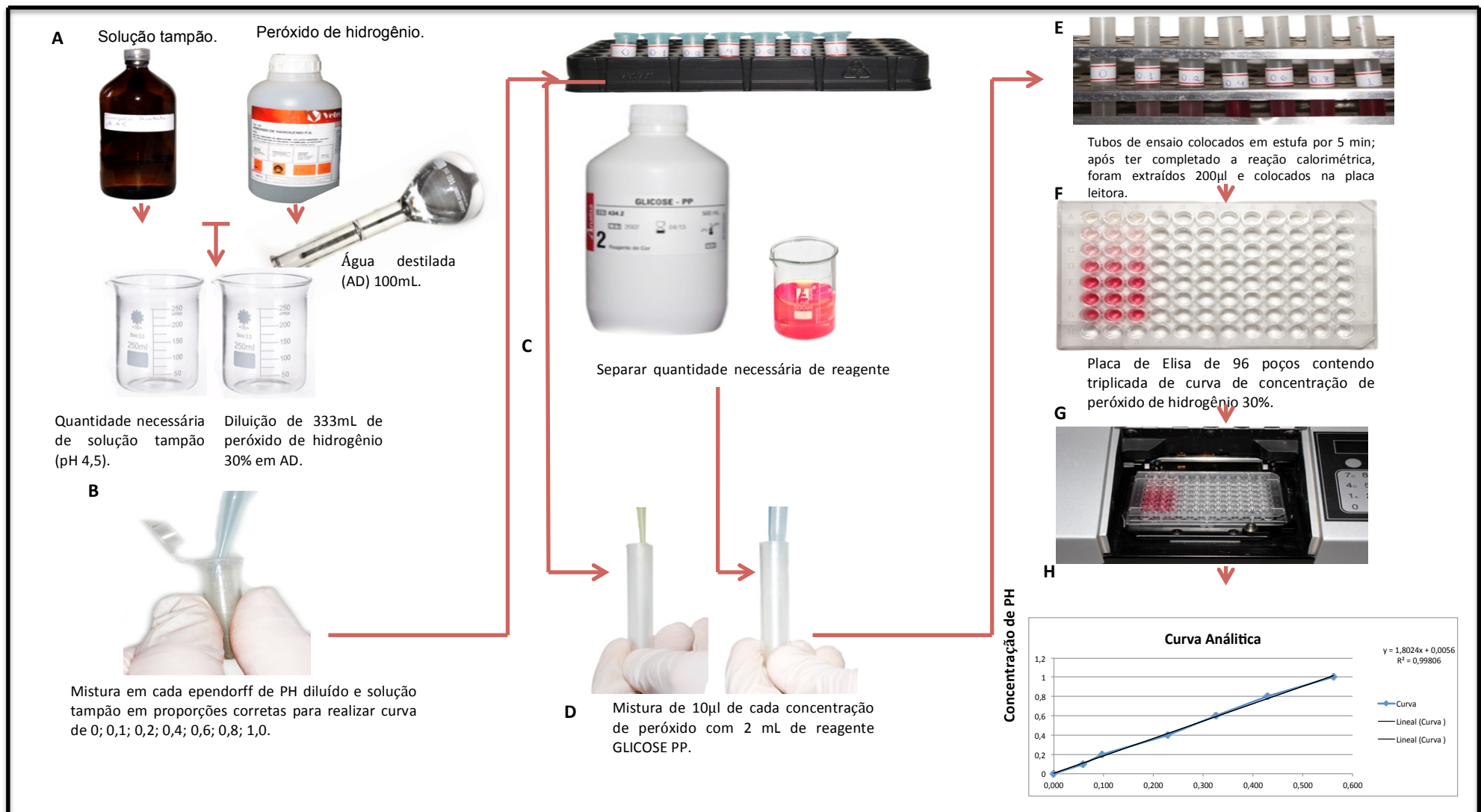


Figura 3. A- Obtenção da quantidade necessária de solução tampão e diluição do peróxido de hidrogênio 30%; B- Mistura das quantidades exatas de solução tampão e peróxido diluído para obter uma curva de 7 pontos (triplicata); C- Reagente colorimétrico Glicose PP; D- Mistura de 10 µL de cada ponto da curva de peróxido da curva com 2mL de reagente colorimétrico; E- Armazenamento em tubos de ensaio estufa a 37° por 5 min para completar a reação colorimétrica; F-

Obtenção de 200 µL de cada tubo de ensaio para serem colocados num dos poços da placa para análise espectrofotométrica; G- Leitura da placa no espectrofotômetro a 510 nm; H- Obtenção da curva analítica

4.9.2. Análise do potencial clareador

Após o corte da raiz dos dentes bovinos, 40 coroas resultantes foram submetidas à pigmentação por meio do processo de coloração artificial, com o objetivo de avaliar o potencial clareador dos grupos 37,5%PC+5%Bv, 37,5%PC+5%HaP e 37,5%PC. Para a simulação da coloração artificial, foi preparada uma mistura (1:1) de 1 L de vinho tinto Galiotto (Flores da Cunha, RS, Brasil) e de 1 L de chá-preto Castellari (Guararema, SP, Brasil). A solução de chá foi produzida por ebulição de 2 g de chá-preto em 100 mL de água destilada durante 5 min, seguido de filtração para remover qualquer resíduo de chá resultante da decocção. As coroas foram então imersas separadamente em 20 mL de solução e levadas à centrífuga com uma velocidade de 5000 rpm por um período total de 60 min. Para todos os grupos, a cor inicial e final dos dentes foi registrada usando o espectrofotômetro VITA Easyshade (Easyshade, Vident, Brea, Ca, USA) com o auxílio de um dispositivo elaborado em silicone de adição Zetalabor (Zhermack, Badia Polesine, Italy), no qual uma abertura circular na superfície vestibular dos dentes no terço médio foi configurada por instrumento cortante, com 5 mm de diâmetro, cuja finalidade foi como guia para padronização para o registro da cor Figura 4. Os dados obtidos com o espectrofotômetro VITA Easyshade para os grupos em análise foram registrados, com base nas cores da escala visual Vitapan Classical (VitaZähnefabrik, Bad Säckingen, Alemanha). Para facilitar os procedimentos estatísticos, as cores da escala foram organizadas segundo o valor do menor para o maior valor (Quadro 5). Cada cor foi representado por um valor numérico em uma escala contínua de 1 a 16.

Quadro 5. Figura da escala de cor segundo o valor

B1	A1	B2	D2	A2	C1	C2	D4	A3	D3	B3	A3,5	B4	C3	A4	C4
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16

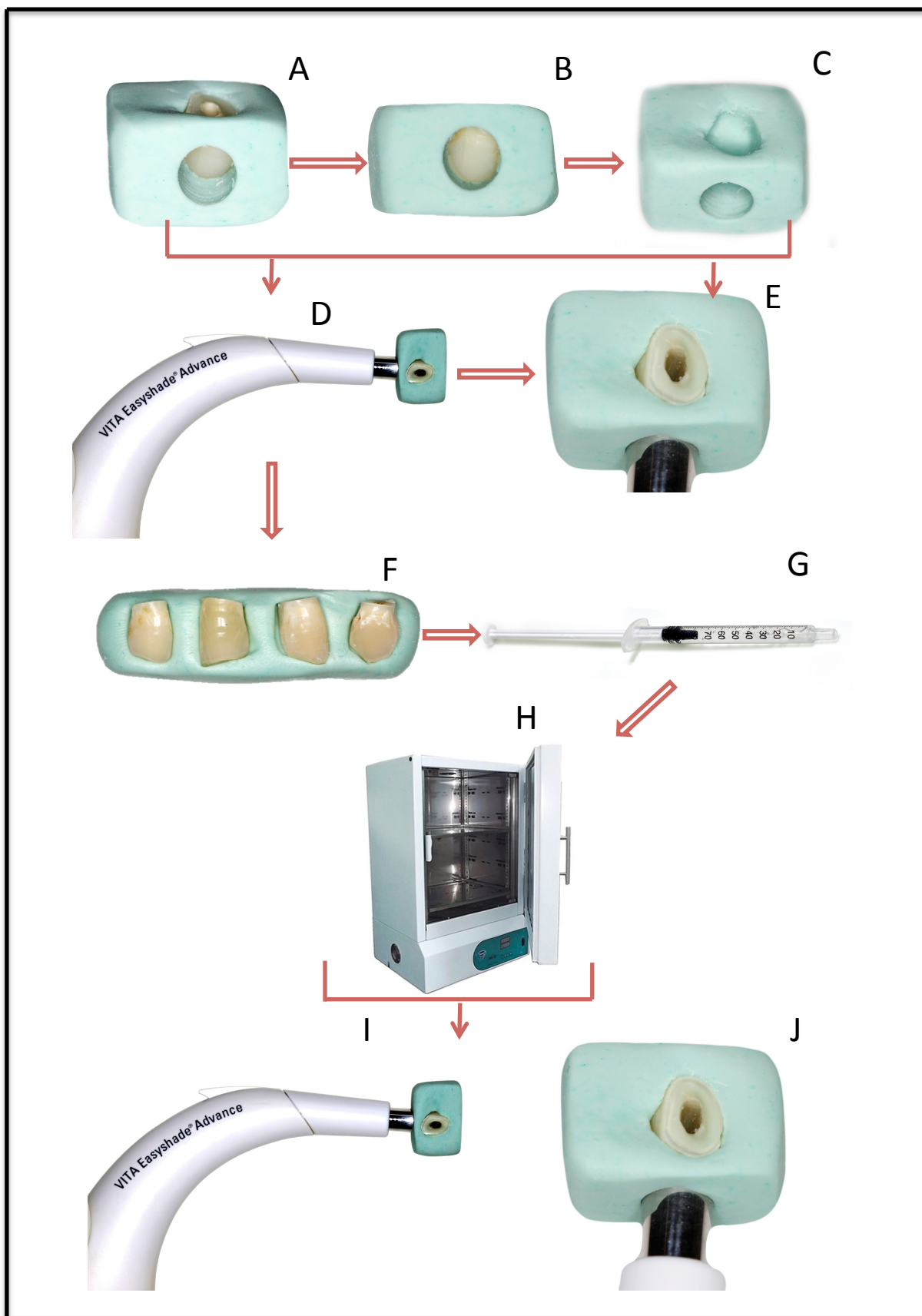


Figura 4. A- Confeção da matriz para facilitar a leitura da cor; B- Abertura circular de 5 mm na superfície vestibular dos dentes no terço médio configurada para padronização do registro da cor; C- Fácil remoção das coroas da matriz para a aplicação dos tratamentos; D- Registro inicial da cor com o espectrofotômetro VITA Easyshade; E- Close-up do registro inicial da cor; F- Coroas retiradas da matriz e recolocadas em

outra matriz, que facilitar a aplicação dos tratamentos; G- Fotografia representativa dos tratamentos; H- Após a aplicação dos tratamentos os dentes foram levados para estuda a 37 °C, com a finalidade de padronizar a temperatura e a degradação dos tratamentos; I- registro final da cor com o espectrofotômetro VITA Easyshade; J- Close-up do registro final da cor

4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Quando aplicável, os dados resultantes das análises efetuadas foram avaliados pelo programa GraphPadPrism, versão 5.01 para Windows. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. A distribuição dos valores de permeabilidade, rugosidade e microdureza superficial foram analisados empregando-se o teste de Shapiro-Wilk. A análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Bonferroni foi usada para comparações estatísticas, com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$). As análises das leituras da cor intra grupo, para a diferença de cor obtida após os procedimentos de clareamento foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon, devido à ausência de normalidade na distribuição dos dados. Para a análise das leituras da cor inter grupo, para a diferença de cor obtida após os procedimentos de clareamento, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney devido à ausência de normalidade na distribuição dos dados.

5. RESULTADOS

5.1. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE BIOVIDRO E DE HIDROXIAPATITA

5.1.1. Nanopartículas de biovidro

A Figura 5 sintetiza os resultados obtidos na caracterização morfológica e espectroscópica das nanopartículas de Bv. Foi possível observar que o Bv foi sintetizado com sucesso, apresentando-se na forma de nanopartículas entre 50 e 80 nm, de estrutura química condizente a uma cerâmica de vidro bioativa terciária.

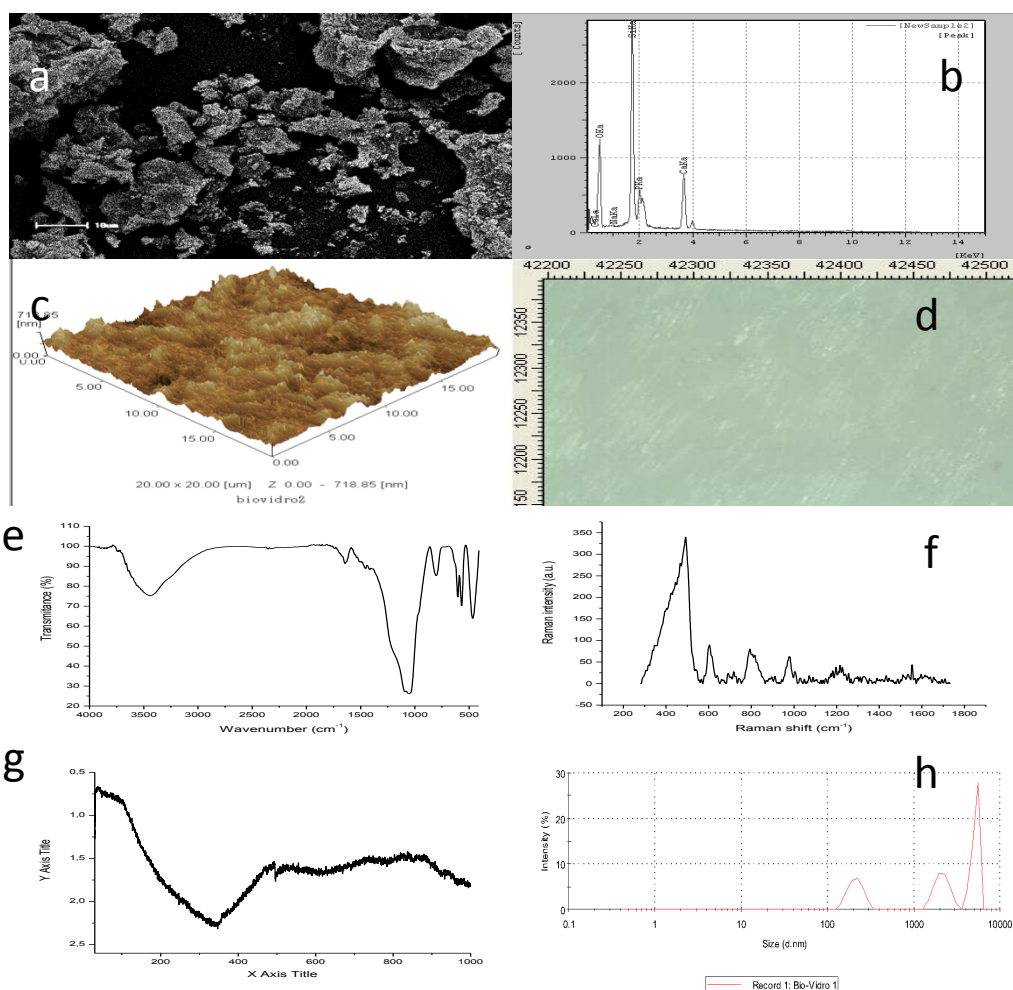


Figura 5. Caracterização das nanopartículas de Bv. (a) Fotomicrografia obtida do MEV; (b) Espectro por EDX; (c) Fotomicrografia obtida do AFM; (d) Imagem do Raman; (e) Espectro FTIR; (f) Espectro Raman; (g) DRX; (h) Z-análise.

5.1.2. Nanopartículas de hidroxiapatita

Os resultados da caracterização morfológica e espectroscópica das nanopartículas de HaP estão representados na Figura 6. Como verificado para o Bv, a HaP também foi sintetizada com sucesso, na forma de nanopartículas entre 20 e 50 nm, de estrutura química condizente à presença de cálcio, fósforo e grupos hidroxila.

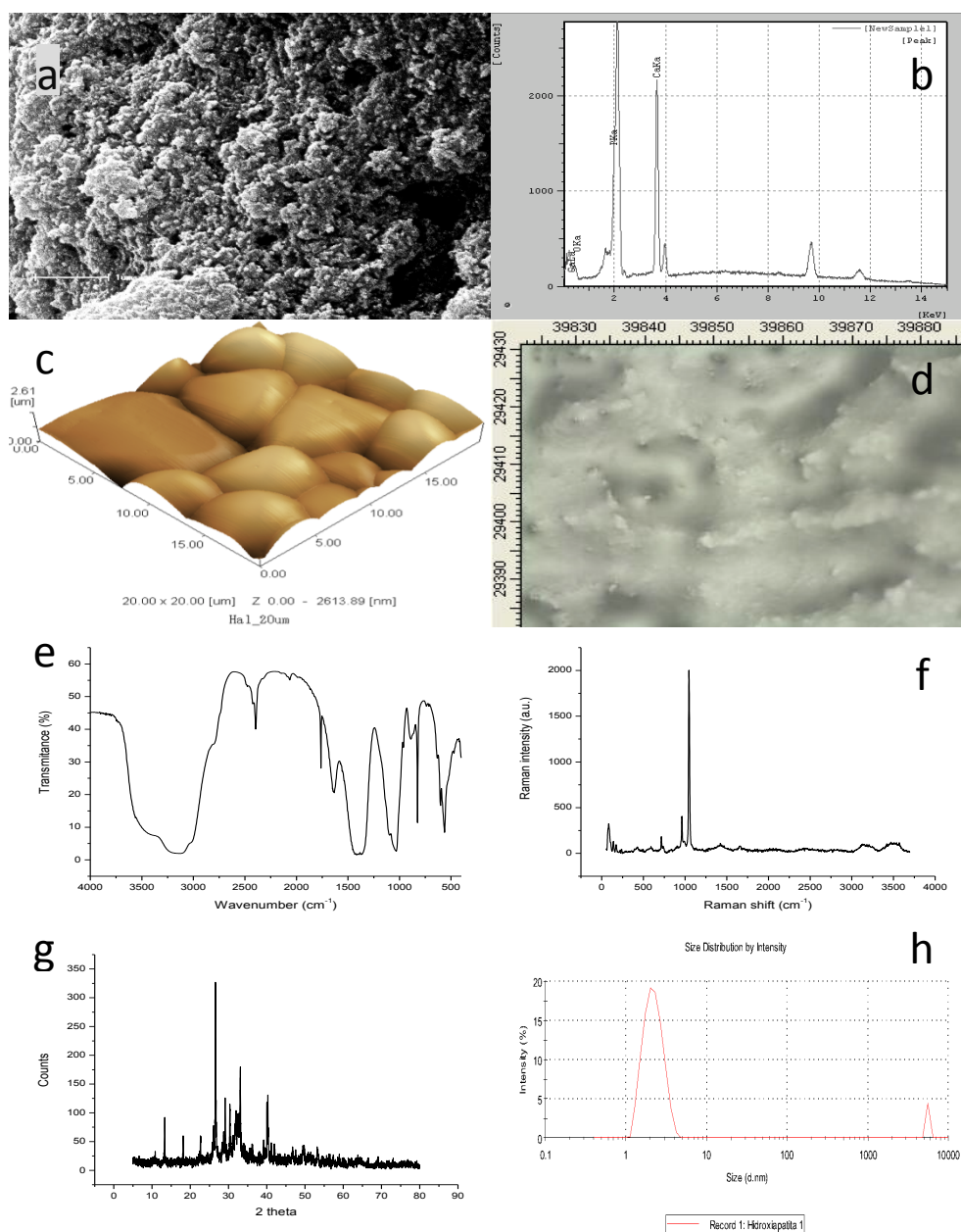


Figura 6. Caracterização das nanopartículas de Bv. (a) Fotomicrografia obtida do MEV; (b) Espectro por EDX; (c) Fotomicrografia obtida do AFM; (d) Imagem do Raman; (e) Espectro FTIR; (f) Espectro Raman; (g) DRX; (h) Z-análise.

5.2. ANÁLISES MORFOLÓGICAS E QUÍMICAS DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTAL

5.2.1. Microscopia eletrônica de varredura

A Figura 7 mostra aspectos da superfície do esmalte dental após o tratamento com os grupos experimentais. De forma resumida, para os grupos contendo nanopartículas de Bv e HaP, foi comprovado o depósito do Bv e da HaP na superfície do esmalte.

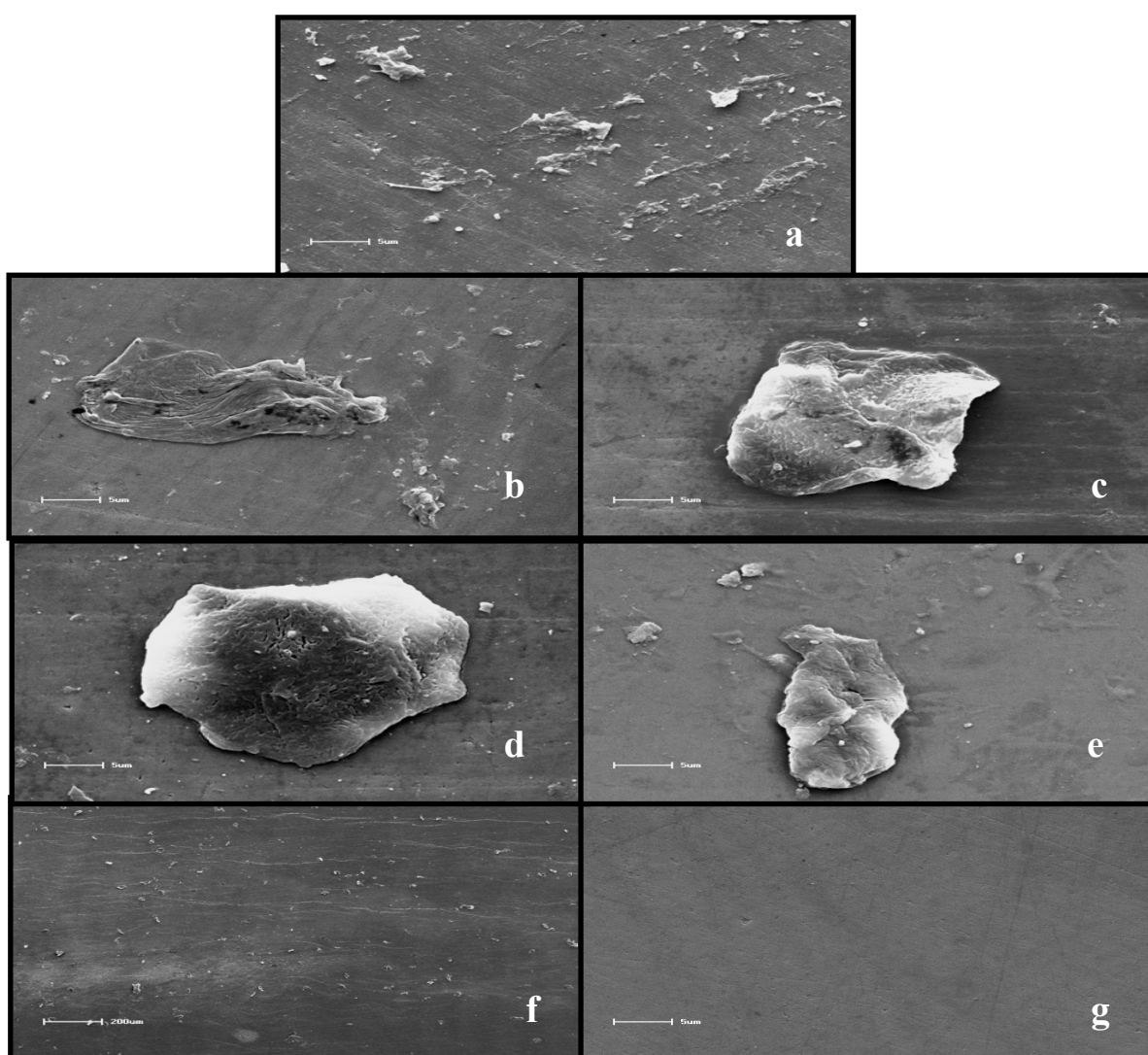


Figura 7. Fotomicrografias obtidas por MEV após os tratamentos grupos; (a) PC 37,5%; (b) PC 37,5%+5%Bv; (c) PC 37,5%+5%HaP; (d) 5%Bv; (e) 5%HaP; (f) Carb; (g) D

5.2.2. Espectroscopia de raios X por dispersão em energia

A Figura 8 mostra os espectros obtidos por EDX para os grupos experimentais: 37,5%PC+5%Bv, 37,5%PC+5%HaP, 37,5%PC, 5%Bv, 5%HaP, Carb, D (a,b,c,d,e,f,g, respectivamente). Em comparação com o grupo D (grupo controle), os demais grupos não acarretaram mudanças químicas na composição mineral do esmalte dental, uma vez que foram detectados picos semelhantes nos espectros de EDX.

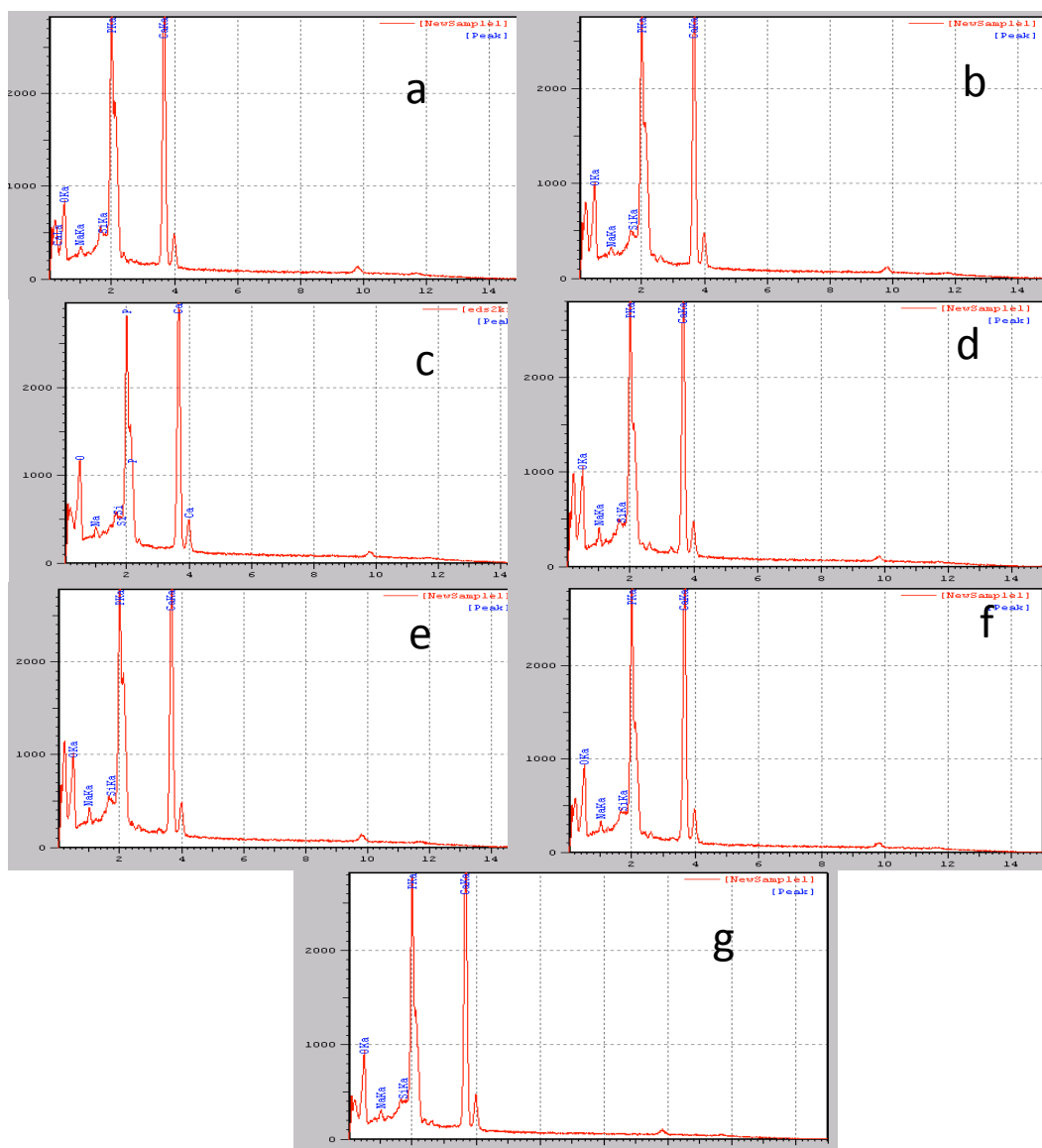


Figura 8. Análise de espectros da composição química da superfície dos diferentes grupos; (a) PC 37,5%; (b) PC 37,5%+5%Bv; (c) PC 37,5%+5%HaP; (d) 5%Bv; (e) 5%HaP; (f) Carb; (g) D

5.2.3. Microscopia de força atômica

A Figura 9 sumariza as imagens obtidas por AFM para os grupos experimentais: 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv, 37,5%PC+5%HaP, 5%Bv, 5%HaP, Carb, D. Em comparação com a superfície do esmalte antes do tratamento, a aplicação do grupo 37,5%PC promoveu um alisamento superficial. Para os grupos contendo Bv e HaP, mesmo na presença do PC, foram verificados depósitos de Bv e de HaP, corroborando com os resultados obtidos por MEV.

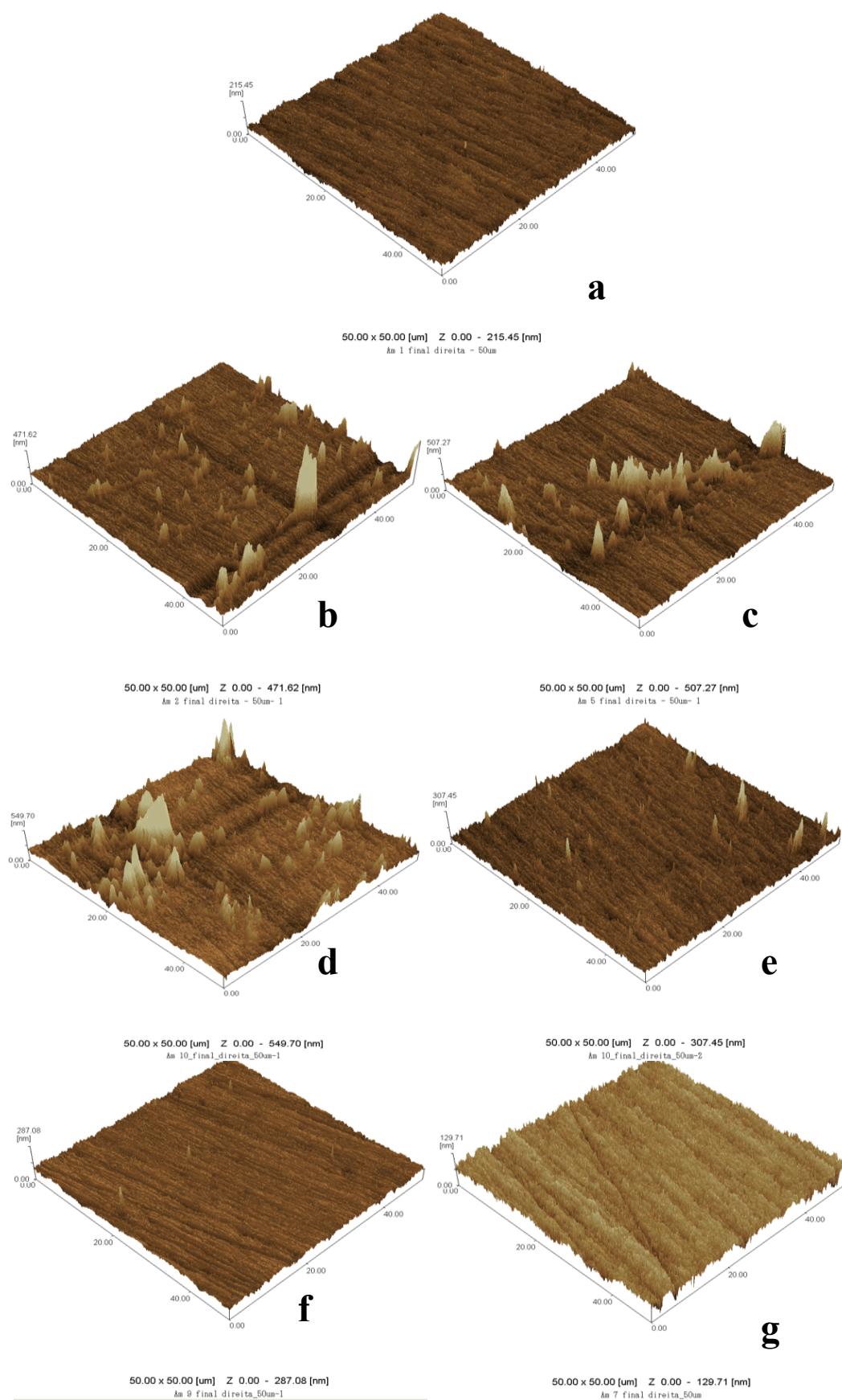


Figura 9. Fotomicrografias de AFM dos grupos; (a) 37,5%PC; (b) 37,5%PC+5%Bv; (c) 37,5%PC+5%HaP; (d) 5%Bv; (e) 5%HaP; (f) Carb; (g) D.

5.3. RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL

A Tabela 2 apresenta os valores de média e desvio-padrão da rugosidade, antes do tratamento e após a aplicação dos grupos experimentais: 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv, 37,5%PC+5%HaP, 5%Bv, 5%HaP, Carb, D. Comparando-se os valores de Ra inicial e Ra final para cada grupo experimental, foi verificada uma redução significativa da rugosidade média apenas para o grupo 37,5%PC ($p < 0,05$), o qual apresentou uma diminuição de $0,023 \pm 0,006 \mu\text{m}$ de Ra inicial para $0,016 \pm 0,005 \mu\text{m}$ de Ra final. Para os demais grupos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Entre os grupos, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram obtidas quando da comparação dos valores de Ra finais entre o grupo 37,5%PC e os demais tratamentos.

Grupo Experimental	Ra inicial (média $\pm$ DP)	Ra final (média $\pm$ DP)
37,5%PC	$0,023 \pm 0,006$	$0,016 \pm 0,005^{*+}$
37,5%PC+5%Bv	$0,022 \pm 0,005$	$0,020 \pm 0,006$
37,5%PC+5%HaP	$0,021 \pm 0,004$	$0,018 \pm 0,006$
5%Bv	$0,026 \pm 0,007$	$0,022 \pm 0,005$
5%HaP	$0,022 \pm 0,006$	$0,019 \pm 0,005$
Carb	$0,021 \pm 0,006$	$0,018 \pm 0,004$
D	$0,024 \pm 0,005$	$0,020 \pm 0,005$

*Representam diferenças significativas intergrupo ($p < 0,05$). ⁺Representam diferenças significativas intragrupo.

Tabela 2. Valores de média e desvio padrão da rugosidade média (Ra) inicial e final expressos em μm

5.4. MICRODUREZA SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL

Os valores de microdureza Knoop para os grupos experimentais, representados em KHN (média e desvio padrão), antes e após o tratamento, estão apresentados na Tabela 3. Comparando-se os valores de microdureza inicial e final para cada grupo experimental, o grupo 37,5%PC revelou uma diminuição significativa ($p < 0,05$), com redução média de 296,0 KHN para 275,92 KHN. Os outros grupos não mostraram uma diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) na comparação dos valores de microdureza inicial e final. Não foi realizada a análise estatística entre os

grupos, uma vez que os CP foram obtidos de diferentes dentes ou mesmo de diferentes regiões do mesmo dente, o que confere uma variabilidade intrínseca das amostras e dificulta comparações válidas.

Grupo Experimental	Microdureza inicial (média ± DP)	Microdureza final (média ± DP)
37,5%PC	296,0±18,3	275,9±22,0 *
37,5%PC+5%Bv	290,4±28,4	287,5±21,3
37,5%PC+5%HaP	278,8±23,8	276,3±23,6
5%Bv	292,6±22,4	288,6±20,2
5%HaP	285,9±29,0	287,0±25,3
Carb	276,8±23,0	265,1±19,8
D	281,9±29,0	278,1±15,4

Nota: *Representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 3. Valores de média e desvio padrão da microdureza inicial e final, expressos em KHN

5.5. DIFUSÃO DO PH

As concentrações de PH que atingiram as câmaras pulpare dos dentes submetidos ao procedimento de clareamento, por 45 min em 3 dias consecutivos, estão demonstradas na Tabela 4 e no Gráfico 1. O grupo 37,5%PC apresentou maior concentração de PH nas câmaras pulpare, quando comparado com os grupos 37,5%PC+5%Bv e 37,5%PC+5%HaP. Para o grupo D, não houve permeabilidade do PH para a câmara pulpar, como esperado. Segundo o teste estatístico, houve uma diferença significativa entre os grupos analisados. O teste estatístico de Mann-Whitney pareado, utilizado para identificar diferenças entre os grupos, revelou que o grupo 37,5%PC apresentou resultados maiores de permeabilidade, quando comparado com os demais grupos ($p < 0,05$).

Grupo Experimental	Concentração de peróxido de hidrogênio (média ± DP, µg/mL)
37,5%PC	21±9*
37,5%PC+5%Bv	4±5
37,5%PC+5%HaP	7±4
D	n.d.±2

Nota: *Representam diferenças significativas intergrupo ($p < 0,05$).

Tabela 4. Valores das médias e desvio padrão da permeabilidade dos grupos experimentais na

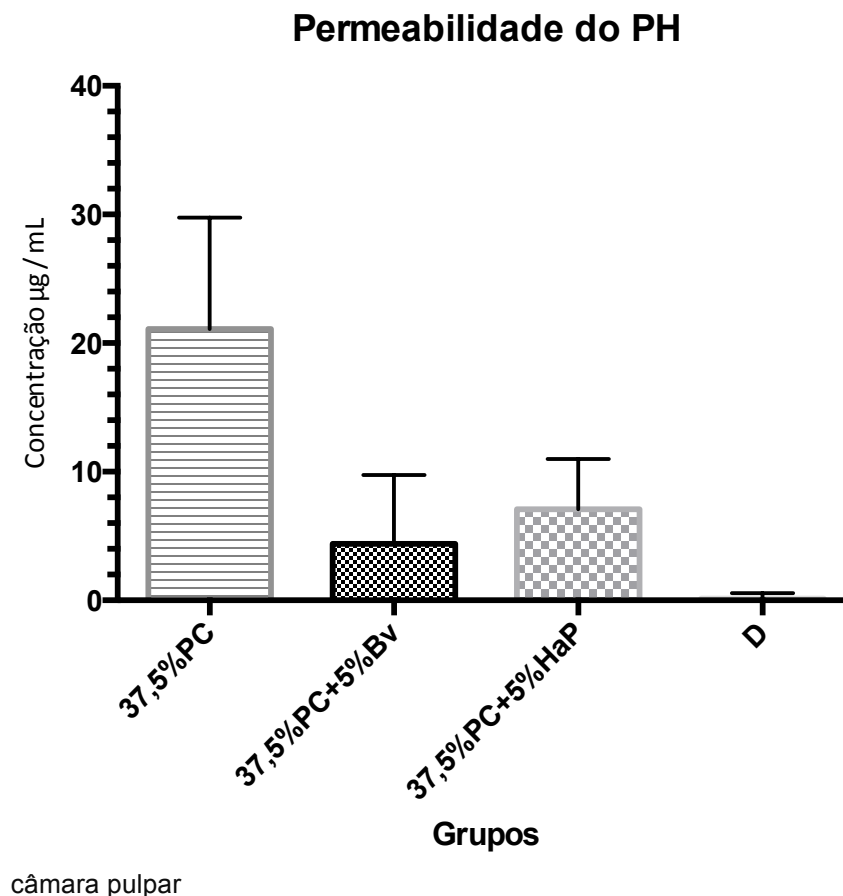


Gráfico 1. Permeabilidade dos grupos experimentais na câmara pulpar (µg/mL)

5.6. EFETIVIDADE DOS AGENTES CLAREADORES

Com o propósito de confirmar o potencial clareador dos diferentes grupos do estudo, foi realizada a medida do espectro de cor com o auxílio do espectrofotômetro VITA Easyshade. A comparação estatística intra-grupo das cores iniciais comparadas com as cores finais, foi verificada por meio do teste Wilcoxon, resultando que para os grupos 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv e 37,5%PC+5%HaP houve uma diminuição significativa nos valores da escala VITA ($p < 0,05$). Ao realizar a comparação inter-grupo foram encontradas diferenças estatísticas entre o grupo 37,5%PC e 37,5%PC+5%Bv, resultando em menores valores de efeito clareador o grupo que continha partículas de Bv na sua composição ($p < 0,05$). Porém, os três grupos apresentaram mudança para cores com menor valor, como pode ser comprovado na Tabela 5 e

visualmente nas Figuras 10, 11 e 12, para os grupos 37,5%PC, 37,5%PC+5%Bv e 37,5%PC+5%HaP, respectivamente.

Grupo Experimental	Cor inicial (média±DP)	Cor Final(média±DP)
PC 37,5%	11,9±0,7	1,6±0,5 ⁺
PC37,5%+5%Bv	10,6±0,5	3,2±0,8 ⁺ *
PC37,5%+5%HaP	12,7±1,6	2,7±0,7 ⁺
D	12,5±0,8	12,8±0,5

Nota: ⁺ Representam diferenças significativas intra grupo ($p < 0,05$), *Representam diferenças significativas inter grupo ($p < 0,05$).

Tabela 5. Efetividade dos clareadores, analisada por meio da escala de cor VITAclassic

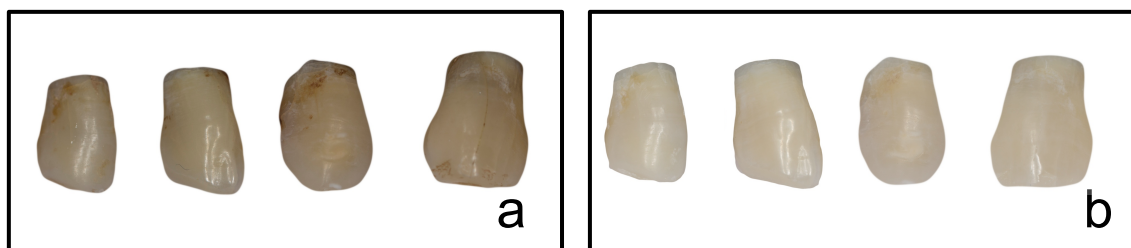


Figura 10. Potencial clareador do grupo 37,5% PC; a) Antes; b) Após tratamento

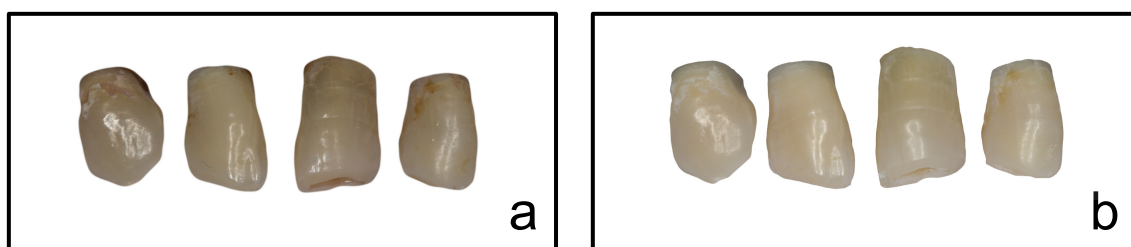


Figura 11. Potencial clareador do grupo 37,5%PC+5%Bv; a) Antes; b) Após tratamento

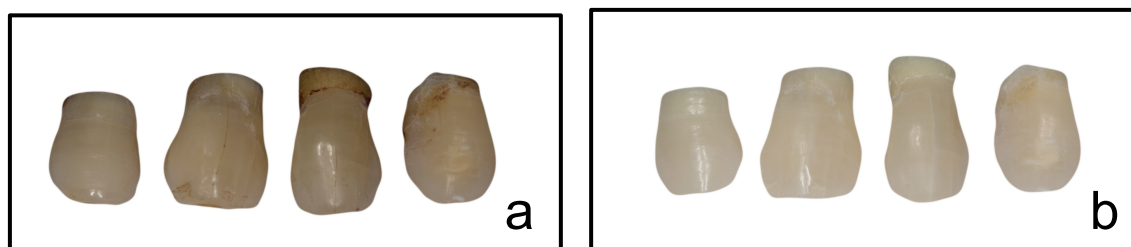


Figura 12. Potencial clareador do grupo 37,5%PC+5%HaP; a) Antes; b) Após tratamento

6. DISCUSSÃO

Não foram encontrados estudos anteriores *in vitro* ou *in vivo* versando sobre géis clareadores que incluíssem na sua composição biomateriais nanoparticulados, em especial o Bv e a HaP. Porém, alguns trabalhos prévios incorporaram outros tipos de partículas, como: ACP, CPP-ACP, cálcio, fluoreto de sódio ou outros agentes dessensibilizantes. Esses trabalhos verificaram que essas partículas incorporadas não afetaram a eficácia clareadora do gel e ajudaram a diminuir os efeitos secundários decorrentes do uso do mesmo (Martin et al.¹ 2010; Abreu et al.³ 2011; Vasconcelos et al.⁴ 2012; Oliveira et al.⁸³ 2005; Grobler et al.⁸⁴ 2009; Borges et al.⁸⁶ 2009; Torres et al.¹⁰² 2010).

Os agentes clareadores utilizados neste estudo foram: PC 37,5%; PC 37,5%+5%Bv e PC 37,5%+5%HaP, sendo, em especial, as duas últimas, formulações inovadoras com potencial para o uso clínico por parte do cirurgião dentista. Este estudo laboratorial foi desenvolvido para determinar os possíveis efeitos deletérios na rugosidade superficial, na microdureza superficial, além de mudanças morfológicas do esmalte dental, alterações químicas na sua estrutura, difusão do PH e mudanças da cor gerada pelo uso desses agentes clareadores experimentais.

6.1. RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL

Neste estudo foi demonstrado que o uso de PC 37,5% promoveu uma maior diminuição na rugosidade superficial dos corpos de prova, quando comparados com os outros grupos: PC 37,5%+5%Bv; PC 37,5%+5%HaP; 5%Bv; 5%HaP; Carb e sem tratamento, os quais não promoveram mudanças significativas no que diz respeito a rugosidade superficial do esmalte, antes e após os tratamentos.

Resultados similares foram obtidos por Martin et al.⁴ 2010, quando adicionaram partículas de cálcio e de fluoreto de sódio na composição de PC 16% e PH 35%. Nos grupos PC 16% e PH 35%, sem a presença de partículas, houve uma maior diminuição na rugosidade superficial do esmalte, concordando com os resultados obtidos nesta investigação.

Abreu et al. ³ (2011) compararam a adição de ACP na composição de PH 7,5 e 9,5% e de PH 35 e 38%, concluindo que os grupos que continham partículas de ACP na sua composição apresentaram valores similares de rugosidade superficial do esmalte, antes e após o tratamento clareador. Diferenças significativas foram verificadas quando do uso do PH 35 e 38%, sem adição de partículas de ACP, os quais promoveram uma diminuição na rugosidade superficial do esmalte, em concordância com este estudo, no qual o PC 37,5%, sem associação às nanopartículas, promoveu diminuição da rugosidade superficial do esmalte dental, diferente dos grupos que continham adição de nanopartículas na composição do agente clareador.

De acordo com vários autores, a adição de partículas nos agentes clareadores (Martin et al. ¹ 2010; Abreu et al. ³ 2011; Vasconcelos et al. ⁴ 2012; Oliveira et al. ⁸³ 2005; Grobler et al. ⁸⁴ 2009) pode resultar na diminuição dos efeitos secundários decorrentes do uso de agentes clareadores, prevenindo a diminuição da rugosidade superficial do esmalte dental ou, até mesmo, acarretando o seu aumento, como verificado neste estudo para os grupos: PC 37,5%+5%Bv e PC 37,5%+5%HaP.

Dessa forma, os resultados verificados neste trabalho foram coerentes com os previamente publicados. Além disso, demonstraram a importância do uso das nanopartículas de Bv e de HaP nos géis de PC 37,5% em impedir a redução da rugosidade superficial do esmalte dental.

6.2. MICRODUREZA SUPERFICIAL DO ESMALTE DENTAL

Ensaio relativo à microdureza superficial do esmalte dental estão amplamente difundidos nas pesquisas odontológicas, sendo considerada um parâmetro que consegue inferir sobre as alterações produzidas pelo ganho ou pela perda do conteúdo mineral da estrutura dental (Attin et al. ⁴⁶ 2009; Araujo et al. ⁸⁷ 2013). Essa propriedade também tem sido estudada nos efeitos decorrentes do uso de agentes clareadores e sua influência nas mudanças minerais da estrutura dental (Vasconcelos et al. ⁴ 2012; Attin et al. ⁴⁶ 2009; Grobler et al. ⁸⁴ 2009; Araujo et al. ⁸⁷ 2013; Magalhaes et al. ⁸⁸ 2012).

Alguns trabalhos indicaram a diminuição dos valores de microdureza superficial do esmalte dental e, por conseguinte, a perda mineral

do mesmo após o uso de agentes clareadores, em diferentes concentrações e tempos de aplicação (Attin et al.⁴⁶ 2009; Grobler et al.⁸⁴ 2009; Majeed et al.⁸⁵ 2008; Araujo et al.⁸⁷ 2013; Maia et al.¹¹² 2008). Resultados semelhantes foram observados nesta pesquisa, na qual o PC 37,5% promoveu a diminuição da microdureza superficial do esmalte dental. Entretanto, os grupos que continham nanopartículas de Bv e de HaP, em especial PC 37,5%+5%Bv e PC 37,5%+5%HaP evitaram a redução da microdureza superficial, sugerindo que não houve perda mineral na estrutura dentária após o uso de agentes clareadores que continham a incorporação de nanopartículas de Bv ou HaP na sua composição. Partículas de diferentes materiais também foram incorporadas na composição de agentes clareadores, prevenindo a perda mineral na estrutura dental após o uso desses agentes modificados (Vasconcelos et al.⁴ 2012; Borges et al.⁵ 2013; Oliveira et al.⁸³ 2005; Grobler et al.⁸⁴ 2009; Borges et al.⁸⁶ 2009). Porém, o diferencial do presente trabalho está relacionado ao uso de uma estratégia nanotecnológica, não adotada nos trabalhos anteriores.

De forma complementar, é importante destacar que, no presente trabalho, os espécimes foram mantidos em contato com saliva artificial a 37°C, uma semana antes dos tratamentos, durante os tratamentos, e uma semana após os mesmos, na tentativa de simular os efeitos remineralizantes da saliva humana. Esse procedimento conferiu certo grau de estabilidade ao conteúdo mineral do esmalte dental, em concordância com o proposto anteriormente pela literatura (Attin et al.⁴⁶ 2009; Arends e ten Bosch¹¹³ 1992) para a avaliação da microdureza superficial.

6.3. ANÁLISE MORFOLÓGICA E QUÍMICA DA SUPERFÍCIE DENTAL

Diferentes estudos acerca da morfologia superficial do esmalte após o uso de agentes clareadores podem ser observados na literatura. É importante ressaltar que nesses trabalhos, as maiores mudanças morfológicas da superfície dental foram promovidos pelo uso de altas concentrações de PC ou PH, os quais trabalharam com concentrações entre 10 e 20% e entre 20 e 38%, respectivamente.

O uso de agentes clareadores caseiros por longos períodos, variando entre 84 a 168 h, podem promover maiores mudanças morfológicas e

minerais da estrutura dental (Faraoni-Romano et al.⁷⁷ 2008; Oliveira et al.⁸³ 2005; Grobler et al.⁸⁴ 2009). Tais mudanças morfológicas (Martin et al.¹ 2010; Vasconcelos et al.⁴ 2012; Cadenaro et al.⁷⁸ 2010; Pedreira De Freitas et al.⁸⁰ 2011; Pedreira de Freitas et al.⁸¹ 2010; Varanda et al.⁸² 2013; Gotz et al.¹¹⁴ 2007) foram similares às obtidas nesta investigação pelo uso de PC 37,5%.

Na tentativa de atenuar esses efeitos morfológicos, trabalhos prévios também incorporaram partículas de diferentes materiais na composição de diferentes agentes clareadores (Martin et al.¹ 2010; Borges et al.⁵ 2013; Pedreira De Freitas et al.⁸⁰ 2011), com resultados bastante satisfatórios. Neste trabalho, os grupos com a incorporação de nanopartículas de Bv ou HaP apresentaram uma deposição desses materiais na superfície do esmalte, o que está de acordo com os resultados verificados para as propriedades analisadas anteriormente e com potencial de incrementar a composição mineral do esmalte dental.

6.4. PERMEABILIDADE DO PH

O PH possui o potencial de ser permeável através do esmalte dental e da dentina pela sua baixa massa molecular, podendo chegar até a câmara pulpar. Trabalhos anteriores demonstraram diferentes níveis de permeabilidade do PH até a câmara pulpar, dependendo da concentração do PH ou PC e do tempo de aplicação (Thitinthapan et al.⁴⁸ 1999; Gokay et al.⁴⁹ 2005; Joiner e Thakker⁵⁰ 2004; Bowles e Ugwuneri⁵⁸ 1987; Hannig et al.⁹⁰ 2011; Berger et al.⁹¹ 2013; Oliveira-Duque et al.⁹⁴ 2013; Pugh et al.⁹⁷ 2005; Schiavoni et al.⁹⁸ 2006; Torres et al.¹⁰² 2010).

Um resultado extremamente interessante desta pesquisa foi a redução significativa na permeabilidade do PH até a câmara pulpar, quando da comparação do grupo PC 37,5% com os grupos de géis clareadores contendo nanopartículas (PC 37,5%+5%Bv e PC 37,5%+5%HaP). Considerando que a sensibilidade pós-clareamento dental está intrinsecamente relacionada à quantidade de peróxido que atinge a polpa dental, esses resultados são extremamente promissores. Dessa forma, sugere-se a realização de estudos *in vivo* complementares, para mensurar a dor pós-procedimento clareador

contendo as estratégias nanotecnológicas e, com isso, propor a sua aplicação clínica futura.

Além disso, estudos atuais demonstraram que a passagem do PH em concentrações de 35% por 5 min ou PH 17,5% por 45, 14 ou 5 min podem produzir certo grau de citotoxicidade celular (Soares et al. ⁵¹ 2013). Nesse sentido, quanto menor seja o valor do PH na câmara pulpar durante o tratamento com os agentes clareadores, menor será o grau de citotoxicidade. Os baixos valores obtidos da passagem de PH nos grupos que contêm as nanopartículas de Bv ou HaP podem oferecer tratamentos com menores respostas de citotoxicidade, diferente do grupo PC 37,5% o qual apresentou maiores valores de passagem do PH ate a câmara pulpar, podendo produzir assim uma maior citotoxicidade celular (Soares et al. ⁵¹ 2013).

6.5. EFETIVIDADE DOS AGENTES CLAREADORES

Como relatado desde o ano de 1850, diferentes agentes químicos têm sido utilizados como agentes clareadores, demonstrando a sua efetividade ao longo desses muitos anos (McCaslin et al. ⁶³ 1999; Basson et al. ¹¹⁵ 2013; Plotino et al. ¹¹⁶ 2008). No entanto, esses agentes clareadores acarretam diferentes efeitos secundários e, com o intuito de reduzir esses problemas, vários materiais têm sido incorporados na composição dos agentes clareadores. Entretanto, pode ocorrer interferência ou redução da eficácia clareadora (Martin et al. ¹ 2010; Abreu et al. ³ 2011; Vasconcelos et al. ⁴ 2012; Borges et al. ⁵ 2013; Oliveira et al. ⁸³ 2005; Grobler et al. ⁸⁴ 2009; Borges et al. ⁸⁶ 2009; Araujo et al. ⁸⁷ 2013).

O presente trabalho demonstrou que a incorporação de nanopartículas de Bv ou HaP na composição de PC 37,5% mantiveram a eficácia clareadora do gel de PC 37,5%. Entretanto, é importante ressaltar que o grupo que promoveu uma maior alteração na cor dos dentes foi o PC 37,5%+5%HaP, o que pode estar relacionada a uma maior compatibilidade entre esse tipo de nanopartículas com o PC.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos propostos neste estudo e com base nos resultados, é possível concluir que:

- Foi possível formular, sintetizar e caracterizar as nanopartículas do Bv e HaP;
- Foi possível incorporar nanopartículas de Bv ou HaP no gel de PC 37,5%, gerando formulações estáveis;
- A aplicação do agente clareador PC 37,5% promoveu a diminuição da microdureza superficial do esmalte dental e os tratamentos com nanopartículas de Bv ou HaP, principalmente aqueles contendo PC 37,5%, não promoveram diminuição nem aumento da microdureza superficial do esmalte dental;
- A aplicação do agente clareador PC 37,5% promoveu a diminuição da rugosidade superficial do esmalte dental, e os tratamentos com nanopartículas de Bv ou HaP, principalmente aqueles contendo PC 37,5%, não promoveram mudanças significativas na rugosidade superficial do esmalte dental
- A aplicação do agente clareador PC 37,5% promoveu uma maior mudança na morfologia superficial do esmalte dental, foram encontradas partículas na superfície do esmalte dental, nos grupos que continham nanopartículas de BV ou HaP, mesmo aqueles contendo PC 37,5%;
- O PC 37,5% promoveu uma maior passagem de PH para a câmara pulpar e a incorporação de nanopartículas de Bv ou HaP no gel de PC 37,5% diminuiu significativamente a permeabilidade do PH para a câmara pulpar;
- A incorporação de nanopartículas de Bv ou HaP no gel de PC 37,5%, em geral, manteve a eficácia clareadora do PC 37,5%.

Referências¹

1. Martin JM, de Almeida JB, Rosa EA, Soares P, Torno V, Rached RN, et al. Effect of fluoride therapies on the surface roughness of human enamel exposed to bleaching agents. *Quintessence International*. 2010;41(1):71-8.
2. Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clinical Oral Investigation*. 2011;15(5):673-80.
3. DE Abreu D, R., Sasaki RT, Amaral FL, Florio 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. *Journal Esthetic Restoration Dent*. 2011;23(3):158-68.
4. de Vasconcelos AA, Cunha AG, Borges BC, Vitoriano Jde O, Alves-Junior C, Machado CT, et al. Enamel properties after tooth bleaching with hydrogen/carbamide peroxides in association with a CPP-ACP paste. *Acta Odontologica Scandinava*. 2012;70(4):337-43.
5. Borges AB, Dantas RL, Caneppele TM, Borges AL, Rocha Gomes Torres C. Effect of remineralizing agents on the bleaching efficacy of gels. *General Dentistry*. 2013;61(7):67-71.
6. Armênio R. Avaliação clínica do flúor como dessensibilizante associado com o clareamento vital noturno com peróxido de carbamida a 16%. Santa Catarina: Universidade do Oeste de Santa Catarina; 2006.
7. Matis BA, Cochran MA, Eckert GJ, Matis JI. In vivo study of two carbamide peroxide gels with different desensitizing agents. *Operative Dentistry*. 2007;32(6):549-55.
8. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Soares LE, Martin AA, Berger SB, et al. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomed Laser Surgery*. 2011;29(5):319-25.
9. Hench LL. Ceramics, glasses, and composites in medicine. *Medical Instruments*. 1973;7(2):136-44.
10. Hench LL. Bioceramics: From concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society*. 1991;74(1):487-510.

¹ De acordo com a norma do programa de Pós-graduação em Odontologia Stricto-Sensu da UEPG, Baseado no modelo Vancouver.

11. Bakry AS, Tamura Y, Otsuki M, Kasugai S, Ohya K, Tagami J. Cytotoxicity of 45S5 bioglass paste used for dentine hypersensitivity treatment. *Journal Of Dentistry*. 2011;39(9):599-603.
12. Gillam DG, Tang JY, Mordan NJ, Newman HN. The effects of a novel Bioglass (R) dentifrice on dentine sensitivity: a scanning electron microscopy investigation. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2002;29(4):305-13.
13. Forsback AP, Areva S, Salonen JI. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2004;9(1):5-20.
14. Hench LL. The story of Bioglass. *Journal Materials Science Materials Medical*. 2006;17(11):967-78.
15. Mitchell JC, Musanje L, Ferracane JL. Biomimetic dentin desensitizer based on nano-structured bioactive glass. *Dental Materials*. 2011;27(4):386-93.
16. Hannig M, Hannig C. Nanomaterials in preventive dentistry. *National Nanotechnologic*. 2010;5(8):565-9.
17. Vandiver J, Dean D, Patel N, Bonfield W, Ortiz C. Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. *Biomaterials*. 2005;26(3):271-83.
18. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *Journal Dentistry*. 2010;38(10):811-9.
19. Kim MY, Kwon HK, Choi CH, Kim BI. Combined effects of nano-hydroxyapatite and NaF on remineralization of early caries lesion. *Bioceramics*. 2007;347(50):330-332.
20. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giulliodori F, Lorenzini A, Putignano A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *Journal Clinical Periodontology*. 2010;37(6):510-7.
21. Yamagishi K, Onuma K, Suzuki T, Okada F, Tagami J, Otsuki M, et al. Materials chemistry: a synthetic enamel for rapid tooth repair. *Nature*. 2005;433(7028):819.
22. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal Dentistry*. 2011;39(6):430-37.

23. Truman J. Bleaching of non-vital discoloured anterior teeth. *Journal of Dental Times*. 1864;1(0):69-72.
24. Howell RA. Bleaching discoloured root-filled teeth. *British Dental Journal*. 1980;148(6):159-62.
25. Spasser H. A simple bleaching technique using sodium perborate. *The New York State Dental Journal*. 1962;27(0)332-34.
26. Nutting EB, Poe GS. A new combination for bleaching teeth. *Journal of the California Dental Association*. 1963;31:289-91.
27. Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence International*. 1989;20(3):173-6.
28. Kihn PW, Barnes DM, Romberg E, Peterson K. A clinical evaluation of 10 percent vs. 15 percent carbamide peroxide tooth-whitening agents. *Journal American Dental Association*. 2000 Oct;131(10):1478-84.
29. Basting RT, Rodrigues AL, Jr., Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *Journal American Dental Association*. 2003;134(10):1335-42.
30. Berga-Caballero A, Forner-Navarro L, Amengual-Lorenzo J. At-home vital bleaching: a comparison of hydrogen peroxide and carbamide peroxide treatments. *Medical Oral Patology Oral Cirurgy Bucal*. 2006;11(1):94-9.
31. Hewlett ER. Etiology and management of whitening-induced tooth hypersensitivity. *Journal California Dental Association*. 2007;35(7):499-506.
32. Pashley DH, Tay FR, Haywood VB, Colins MA, Drisko CL. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. Considerations for managing bleaching sensitivity. *Inside dentistry*. 2008;4:25-31
33. Nathoo S, Stewart B, Zhang YP, Chaknis P, Rustogi KN, DeVizio W, et al. Efficacy of a novel nontray paint-on 18% carbamide peroxide whitening gel. *Compend Contin Education Dental journal*. 2002;23(1):26-31.
34. Alkhatib MN, Holt R, Bedi R. Age and perception of dental appearance and tooth color. *Journal Of Gerodontology*. 2005;6:22-32.
35. Odioso LL, Gibb RD, Gerlach RW. Impact of demographic, behavioral, and dental care utilization parameters on tooth color and personal satisfaction. *Compendium of Continuing Education in Dentistry* 2000 21(S):35-41.

36. Xiao J, Zhou XD, Zhu WC, Zhang B, Li JY, Xu X. The prevalence of tooth discolouration and the self-satisfaction with tooth colour in a Chinese urban population. *Journal Oral Rehabilitation*. 2007;34(5):351-60.
37. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J*. 2001;190(6):309-16.
38. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *Journal Dentistry*. 2004;32(3):3-12.
39. Macpherson LM, Stephen KW, Joiner A, Schafer F, Huntington E. Comparison of a conventional and modified tooth stain index. *Journal Clinical Periodontology*. 2000;27(11):854-9.
40. Nathoo SA. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. *Journal American Dental Association*. 1997;128:6S-10S.
41. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 2003;14(4):292-304.
42. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *British Dental Journal*. 2007;371-6.
43. Wiley J, Sons. In: M H-G, editor. *Encyclopedia of chemical technology*. 4th ed. New York 1992.
44. Kashima-Tanaka M, Tsujimoto Y, Kawamoto K, Senda N, Ito K, Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J Endod*. 2003 Feb;29(2):141-3.
45. Chen JH, Xu JW, Shing CX. Decomposition Rate of Hydrogen-Peroxide Bleaching Agents under Various Chemical and Physical Conditions. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1993;69(1):46-48.
46. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dental Materials*. 2009;25(2):143-57.
47. Slezak B, Santarpia P, Xu T, Monsul-Barnes V, Heu RT, Stranick M, et al. Safety profile of a new liquid whitening gel. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*. 2002;23(11):4-11.
48. Thitinanthapan W, Satamanont P, Vongsavan H. In vitro penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide. *Journal of Esthetic Dentistry*. 1999;11(5):259-64.

49. Gokay O, Mujdeci A, Algin E. In vitro peroxide penetration into the pulp chamber from newer bleaching products. *International Endodontic Journal*. 2005;38(8):516-20.
50. Joiner A, Thakker G. In vitro evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product. *Journal Of Dentistry*. 2004;32:19-25.
51. Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Concentrations of and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: Effects on pulp cell viability and whitening efficacy. *Joural Dentistry*. 2013;13:100-6
52. da Costa JB, McPharlin R, Paravina RD, Ferracane JL. Comparison of at-home and in-office tooth whitening using a novel shade guide. *Operative Dentistry*. 2010;35(4):381-8.
53. Goldstein C, Goldstein R, Feinman R, Garber D. Bleaching vital teeth: state of the art. *Quintessence International*. 1989;20:729-37.
54. Hanks C, Fat J, Wataha J, Corcoran J. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials in vitro. *Journal of Dental Reserch*. 1993;72:931-38.
55. Hegedus C, Bistey T, Flora-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *Journal Dentistry*. 1999;27(7):509-15.
56. Benetti A, Valera M, Mancini M, Miranda C, Balducci I. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. *International Endodontic Journal*. 2004;37:120-24.
57. Bitter N. A scanning electron microscope study of the long-term effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *General Dentistry*. 1998 46:84-88.
58. Bowles WH, Ugwuneri Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. *Journal Endodontics*. 1987;13(8):375-7.
59. Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. *Journal Endodontics*. 1992;18(7):315-7.
60. Gokay O, Mujdeci A, Algin E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips. *Journal of Endodontics*. 2004;30(12):887-89.
61. Nathanson D. Vital tooth bleaching: sensitivity and pulpal considerations. *Journal American Dental Associetion*. 1997;128:41-44.

62. Sulieman M. Perview of bleaching techniques. 1. History, chemistry, safety and legal aspects. *Dental Update*. 2004;1:608-16.
63. McCaslin AJ, Haywood VB, Potter BJ, Dickinson GL, Russell CM. Assessing dentin color changes from nightguard vital bleaching. *Journal American Dental Association*. 1999;130(10):1485-90.
64. Kim S. Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. *Journal Endodontics*. 1990;16(2):48-53.
65. Goodis H, Bowles W, Hargreaves K. Prostaglandin E2 enhances bradykinin-evoked iCGRP release in bovine dental pulp. *Journal of Dental Reserch*. 2000;79:1604-07.
66. Cook SP, McCleskey EW. Cell damage excites nociceptors through release of cytosolic ATP. *Pain*. 2002;95(1-2):41-47.
67. Caviedes-Bucheli J, Ariza-Garcia G, Restrepo-Mendez S, Rios-Osorio N, Lombana N, Munoz HR. The effect of tooth bleaching on substance P expression in human dental pulp. *Journal Endodontics*. 2008;34(12):1462-5.
68. Markowitz K. Tooth sensitivity: mechanisms and management. *Compendium*. 1993;14(1):1032-46.
69. Orchardson R, Gillam DG. Managing dentin hypersensitivity. *Journal American Dental Association*. 2006;137(7):990-8.
70. Miglani S, Aggarwal V, Ahuja B. Dentin hypersensitivity: Recent trends in management. *Journal Conserve Dentistry*. 2010 Oct;13(4):218-24.
71. Farmakis ET, Kozyrakis K, Khabbaz MG, Schoop U, Beer F, Moritz A. In vitro evaluation of dentin tubule occlusion by Denshield and Neodymium-doped yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *Journal Endodontic*. 2012;38(5):662-6.
72. Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomedical Materials*. 2009;4(3):34-44.
73. Zhao H, He W, Wang Y, Zhang X, Li Z, Yan S, et al. Biomineralization of large hydroxyapatite particles using ovalbumin as biosurfactant. *Materials Letters*. 2008;62(20):3603-05.
74. Li L, Pan HH, Tao JH, Xu XR, Mao CY, Gu XH, et al. Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *Journal of Materials Chemistry*. 2008;18(34):4079-84.

75. Onuma K, Yamagishi K, Oyane A. Nucleation and growth of hydroxyapatite nanocrystals for nondestructive repair of early caries lesions. *Journal of Crystal Growth*. 2005;282(1-2):199-207.
76. Cadenaro M, Breschi L, Nucci C, Antonioli F, Visintini E, Prati C, et al. Effect of two in-office whitening agents on the enamel surface in vivo: a morphological and non-contact profilometric study. *Operative Dentistry*. 2008;33(2):127-34.
77. 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. *Journal Esthetic Restoration Dentistry*. 2008;20(6):395-402.
78. Cadenaro M, Navarra CO, Mazzoni A, Nucci C, Matis BA, Di Lenarda R, et al. An in vivo study of the effect of a 38 percent hydrogen peroxide in-office whitening agent on enamel. *Journal American Dental Association*. 2010;141(4):449-54.
79. Azrak B, Callaway A, Kurth P, Willershausen B. Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. *Journal Esthetic Restoration Dentistry*. 2010;22(6):391-9.
80. Pedreira De Freitas AC, Botta SB, Teixeira Fde S, Salvadori MC, Garone-Netto N. Effects of fluoride or nanohydroxiapatite on roughness and gloss of bleached teeth. *Microscopy Research Technique*. 2011;74(12):1069-75.
81. Pedreira de Freitas AC, Espejo LC, Botta SB, Teixeira F, Aparecida LM, Garone-Netto N, et al. AFM analysis of bleaching effects on dental enamel microtopography. *Applied Surface Science*. 2010;256(9):2915-19.
82. Varanda E, Do Prado M, Simao RA, Dias KR. Effect of in-office bleaching agents on the surface roughness and morphology of different dental composites: an AFM study. *Microscopic Reserch Technology*. 2013;76(5):481-5.
83. de Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. *Brazilian Dental Journal*. 2005;16(2):103-6.
84. Grobler SR, Majeed A, Moola MH. Effect of various tooth-whitening products on enamel microhardness. *Journal South African Dental Association*. 2009;64(10):474-9.
85. Majeed A, Grobler SR, Moola MH, Rossouw RJ, van Kotze TJ. Effect of four different opalescence tooth-whitening products on enamel microhardness. *Journal South African Dental Association*. 2008;63(5):282-4, 86.

86. Borges AB, Samezima LY, Fonseca LP, Yui KC, Borges AL, Torres CR. Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Operative Dentistry*. 2009;34(5):593-7.
87. de Araujo LS, dos Santos PH, Anchieta RB, Catelan A, Fraga Briso AL, Fraga Zaze AC, et al. Mineral loss and color change of enamel after bleaching and staining solutions combination. *Journal Biomedical Optical*. 2013;18(10):108-14.
88. Magalhaes JG, Marimoto ARK, Torres CRG, Pagani C, Teixeira SC, Barcellos DC. Microhardness change of enamel due to bleaching with in-office bleaching gels of different acidity. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2012;70(2):122-26.
89. Gökay O, Yilmaz F, Akin S, Tunçbilek M, Ertan R. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. *Journal Endodontics*. 2000;26(2):92-4.
90. Hannig C, Weinhold HC, Becker K, Attin T. Diffusion of peroxides through dentine in vitro with and without prior use of a desensitizing varnish. *Clinical Oral Investigations*. 2011;15(6):863-68.
91. Berger S, Tabchoury C, Ambrosano G, Giannini M. Hydrogen peroxide penetration into the pulp chamber and dental permeability after bleaching. *General Dentistry*. 2013;61(3):21-5.
92. Arwill T, Myrberg N, Söremark R. Penetration of radioactive isotopes through enamel and dentine. *Odontol Revy*. 1969;20(1):47-54.
93. Crim GA. Post-operative bleaching: effect on microleakage. *American Journal Dentistry*. 1992;5(2):109-12.
94. de Oliveira Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Bleaching effectiveness, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity of a chemically activated bleaching gel. *Clinical Oral Investigation*. 2013;22;104-08
95. Mottola H, Simpson B, Gorin G. Absorptiometric determination of hydrogen peroxide in submicrogram amounts with leucocrystal violet and peroxidase as catalyst. *Anal Chemistry*. 1970;42:410-11.
96. Bauminger B. Micro method for manual analysis of true glucose in plasma without deproteinization. *Journal of Clinical Pathology*. 1974;27:1015-17.
97. Pugh G, Jr., Zaidel L, Lin N, Stranick M, Bagley D. High levels of hydrogen peroxide in overnight tooth-whitening formulas: effects on enamel and pulp. *Journal Esthetic Restoration Dentistry*. 2005 17(1):40-7.

98. Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues AL, Jr., Serra MC, Pecora JD, Froner IC. Effect of bleaching agents on enamel permeability. *American Journal Dentistry*. 2006;19(5):313-6.
99. Hannig C, Zech R, Henze E, Dorr-Tolui R, Attin T. Determination of peroxides in saliva—kinetics of peroxide release into saliva during home-bleaching with Whitestrips® and Vivastyle®. *Archives of Oral Biology*. 2003;48(8):559-66.
100. Hannig C, Zech R, Henze E, Dreier S, Attin T. Peroxide release into saliva from five different home bleaching systems in vivo. *American Journal Dentistry*. 2005;18:13-8.
101. Hannig C, Willenbacher S, Becker K, Mahony C, Attin T. Recovery of peroxides in saliva during home bleaching--influence of smoking. *Journal Oral Rehabilitation*. 2006;33(7):533-41.
102. Torres CR, Wiegand A, Sener B, Attin T. Influence of chemical activation of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on its penetration and efficacy--in vitro study. *Journal Dentistry*. 2010;38(10):838-46.
103. Hong Z, Liu A, Chen L, Chen X, Jing X. Preparation of bioactive glass ceramic nanoparticles by combination of sol-gel and coprecipitation method. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2009;355(6):368-72.
104. El-Kady AM, Ali AF, Rizk RA, Ahmed MM. Synthesis, characterization and microbiological response of silver doped bioactive glass nanoparticles. *Ceramics International journal*. 2012;38(1):177-88.
105. Xia W, Chang J. Preparation and characterization of nano-bioactive-glasses (NBG) by a quick alkali-mediated sol-gel method. *Materials Letters*. 2007;61(14-15):3251-53.
106. Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomater*. 2013;9(8):7591-621.
107. Oberg C, Dos-Santos FA. Análise de in vitro de substâncias dessensibilizantes quanto ao potencial de obliteração de túbulos dentinários. Ponta Grossa: Universidad Estadual De Pontagrossa; 2009.
108. Meurman JH, Frank RM. Progression and surface ultra structure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Reserch*. 1991;25(2):81-7.
109. De Melo Maranhão KM, Klautau EB, De Melo Maranhão P, Guimarães RB, V. G. The Effect Of Storage Solutions On Enamel Of Bovine Teeth. *Salusvita*. 2009;28(2):129-34.

110. Borges BC, Borges JS, de Melo CD, Pinheiro IV, Santos AJ, Braz R, et al. Efficacy of a novel at-home bleaching technique with carbamide peroxides modified by CPP-ACP and its effect on the microhardness of bleached enamel. *Operative Dentistry*. 2011;36(5):521-8.
111. De Campo Lawder JA, Stadler D, Dos Santos FA. Estudo In Vitro Das Alterações Em Substrato Dentário Bovino Submetido À Erosão Ácida E Escovação Simulada. Ponta Grossa, Paraná, Brasil: Universidade Estadual De Pontagrossa; 2010.
112. Maia E, Baratieri LN, Caldeira de Andrada MA, Monteiro S, Jr., Vieira LC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an in situ study. *Journal Dentistry*. 2008;36(1):2-7.
113. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *Journal Dental Reserch*. 1992;71:924-8.
114. Gotz H, Duschner H, White DJ, Klukowska MA. Effects of elevated hydrogen peroxide 'strip' bleaching on surface and subsurface enamel including subsurface histomorphology, micro-chemical composition and fluorescence changes. *Journal Dentistry*. 2007;35(6):457-66.
115. Basson RA, Grobler SR, Kotze TJ, Osman Y. Guidelines for the selection of tooth whitening products amongst those available on the market. *journal South African Dental Association*. 2013;68(3):122-9.
116. Plotino G, Buono L, Grande NM, Pameijer CH, Somma F. Nonvital tooth bleaching: a review of the literature and clinical procedures. *Journal Endodontic*. 2008;34(4):394-407.

ANEXO A
Pedido de Patente
(AGIPI)



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2017 009481 2

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 80257355000108

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: AV GAL CARLOS CAVALCANTI, 4748 - UVARANAS

Cidade: Ponta Grossa

Estado: PR

CEP: 84030-900

País: Brasil

Telefone: (42)32203440

Fax: (42)32203263

Email: allegat@uepg.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DE SISTEMAS CLAREADORES DENTAIS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA

Resumo: A presente invenção refere-se ao processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, com o propósito de evitar os efeitos secundários recorrentes do contato direto entre o clareador e a superfície dental. O uso das nanopartículas, em quantidade eficaz, permite o clareamento dental efetivo, somando-se as vantagens de reduzir a permeabilidade do peróxido de hidrogênio ou outro agente clareador substituto até a câmara pulpar, o que diminui a sensibilidade dentária, e de evitar alterações na microdureza superficial, na rugosidade superficial e na morfologia superficial do esmalte dental, mantendo a eficácia clareadora do produto.

Figura a publicar: fig2

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3

Nome: PAULO VITOR FARAGO

CPF: 02688357999

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: AV GAL CARLOS CAVALCANTI, 4748

Cidade: PONTA GROSSA

Estado: PR

CEP: 84030-900

País: BRASIL

Telefone: (42) 997 16641

Fax:

Email: PVFARAGO@GMAIL.COM

Inventor 2 de 3

Nome: ANDRES FERNANDO MONTENEGRO

CPF: 01219050989

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: AV GAL CARLOS CAVALCANTI, 4748

Cidade: PONTA GROSSA

Estado: PR

CEP: 84030-900

País: BRASIL

Telefone: (42) 997 30983

Fax:

Email: ANDRESFMFM@HOTMAIL.COM

Inventor 3 de 3

Nome: ALESSANDRO DOURADO LOGUERCIO

CPF: 38196913249

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: AV GAL CARLOS CAVALCANTI, 4748

Cidade: PONTA GROSSA

Estado: PR

CEP: 84030-900

País: BRASIL

Telefone: (42) 990 29903

Fax:

Email: ALOGUERCIO@HOTMAIL.COM

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	pgto gru sist claread.pdf
Desenho	1 - Figuras 05 fev 2017 (1).pdf
Relatório Descritivo	2 - Redaç,ão de Patente Andre´s 05 fev 2017 (1).pdf
Reivindicação	4 - Reivindicac,ões 05 fev 2017 (1).pdf
Resumo	3 - Resumo 05 fev 2017 (1).pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- ☒ Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- ☒ Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

IMPRIMIR

FECHAR

Comprovante de Pagamento de Bloqueto via GovConta Caixa

Nome:	UEPG
Conta Debitada:	3186/006/00000003-5

Bloqueto - Dados do Pagamento				
Representação Numérica do Código de Barras:				
0019953637	10000022177	03029776212	9	00000000007000

Data do Vencimento:	17/04/2017
Nome do Banco:	BANCO DO BRASIL S/A
Valor (R\$):	70,00.
Identificação da Operação:	EMP 7028782 OPE 10942

Data de Débito:	17/04/2017 -14:37:52
Data da Operação:	17/04/2017
Código da Operação:	00581036
Chave de Segurança:	7WZMQQQWKHT7R844

CPFs Autorizadores:
018.284.749-75
003.665.589-94

Operação realizada com sucesso.

DESENHOS

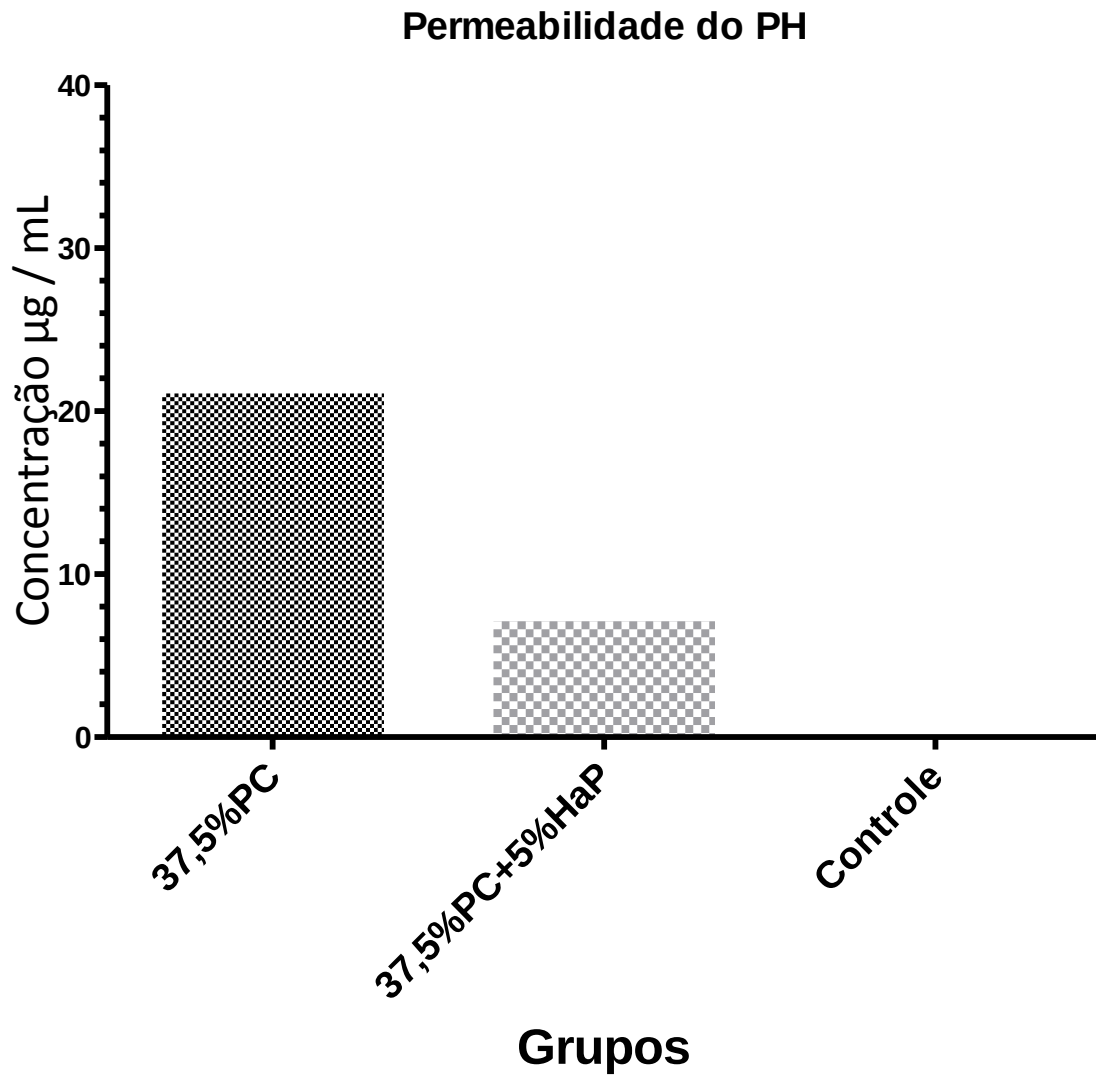
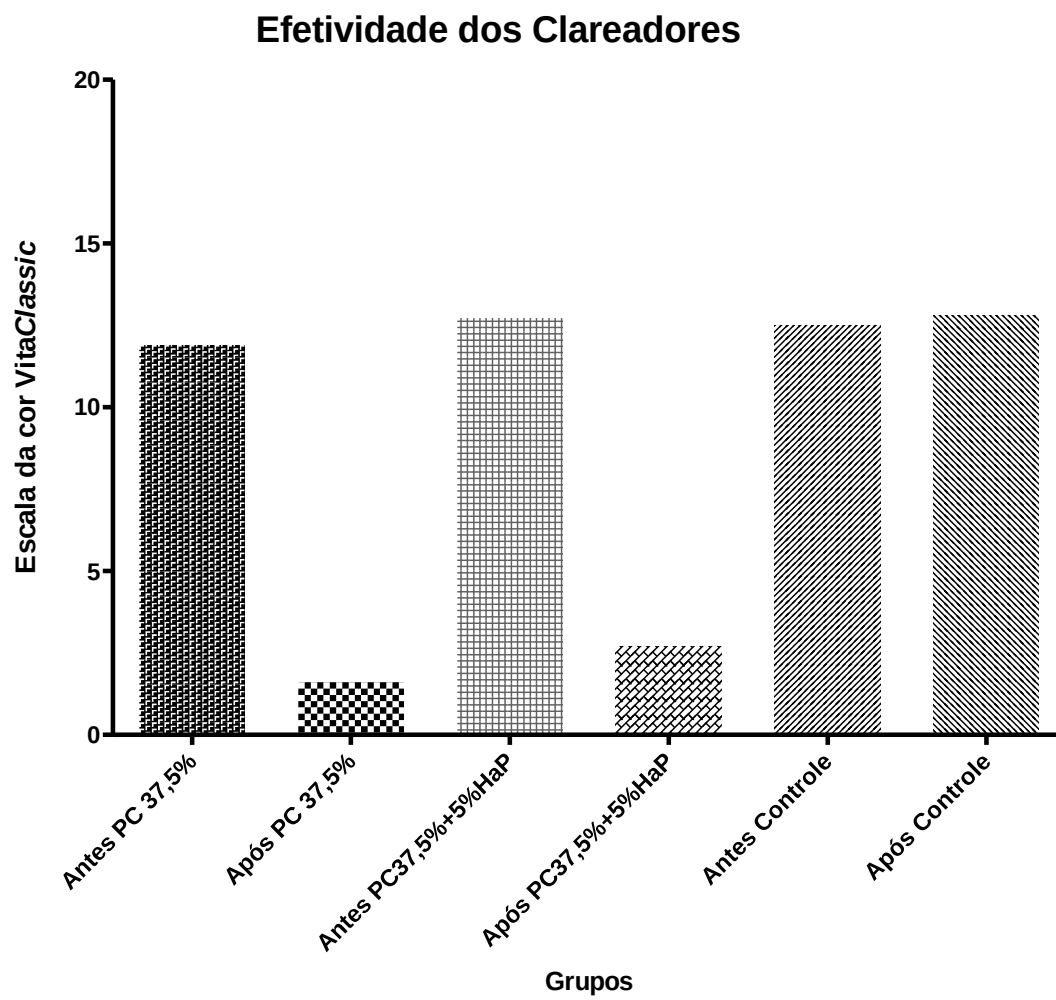
Figura 1.

Figura 2.

PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DE SISTEMAS CLAREADORES DENTAIS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA

Campo da Invenção

01 A presente invenção refere-se ao processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, com o propósito de evitar os efeitos secundários recorrentes do contato direto entre o clareador e a superfície dental. O uso das nanopartículas, em quantidade eficaz, permite o clareamento dental efetivo, somando-se as vantagens de reduzir a permeabilidade do peróxido de hidrogênio ou outro agente clareador substituto até a câmara pulpar, o que diminui a sensibilidade dentária, e de evitar alterações morfológicas no esmalte dental. As nanopartículas de hidroxiapatita apresentam versatilidade de uso e estabilidade, podendo ser aplicadas em diferentes produtos para clareamento dental como géis, fitas, vernizes, chicletes, dentifrícios e colutórios, de uso caseiro ou em consultório odontológico, envolvendo fotoativação ou não, todos os quais podem compor novos materiais, originários a partir da incorporação das nanopartículas.

Fundamentos da Invenção e Estado da Arte

02 O uso do peróxido de hidrogênio, do peróxido de carbamida, ou de outros agentes clareadores substitutos, têm sido amplamente difundido na Odontologia Estética contemporânea.

03 Entretanto, esses sistemas clareadores dentais baseados em peróxidos têm efeitos colaterais frequentes, durante e após a aplicação. Há relatos de alterações do conteúdo orgânico e inorgânico do esmalte dental, como diminuição da microdureza superficial, bem como aumento da sensibilidade dental, devido à permeabilidade do peróxido até a câmara pulpar. A sensibilidade dental é considerada o principal efeito secundário transitório decorrente do uso de sistemas clareadores na atualidade.

04 Em geral, existem duas alternativas terapêuticas para a redução da sensibilidade dental decorrente do procedimento de clareamento. Os agentes de oclusão e os agentes que diminuem a excitabilidade das terminações nervosas

dentais, que podem ser empregados de forma isolada ou concomitante. Os componentes mais utilizados como agentes dessensibilizantes durante o clareamento dental são: fluoreto de sódio e nitrato de potássio, embora outros compostos químicos também possam ser usados. Recentemente, tem sido também proposto o uso do fosfato de cálcio amorfo (ACP) e cerâmicas bioativas de vidro ou biovidro. A utilização do fluoreto tem demonstrado um efeito relativamente modesto, na medida em que os íons fluoreto não contribuem expressivamente no processo de oclusão. O nitrato de potássio demanda uma aplicação por, no mínimo, duas semanas para reduzir a sensibilidade dental. A instabilidade aquosa limita ainda o uso do ACP e do biovidro em formulações de clareamento dental.

05 Nesse contexto, a adição de nanopartículas de hidroxiapatita na composição de sistemas de clareamento dental pode contornar esses problemas tecnológicos e, paralelamente, diminuir os efeitos secundários do procedimento, sem interferir na capacidade clareadora. O uso da nanotecnologia traz vantagens ainda não exploradas em sistemas clareadores. Além do tamanho reduzido e da área superficial elevada, os nanomateriais têm movimento browniano (aleatório) no fluido, o que pode contribuir para a oclusão dental. Também, a hidroxiapatita é uma forma termodinamicamente mais estável que, por exemplo o ACP, o que viabiliza o uso em sistemas clareadores elaborados em meio aquoso.

06 A literatura destaca apenas a incorporação de nanopartículas de biovidro no peróxido de hidrogênio a 35%, imediatamente antes do uso, com resultados mecânicos e morfológicos adequados (Deng et al. ⁴ 2013).

07 Assim, até o presente momento, não existem sistemas clareadores baseados na inclusão de nanopartículas de hidroxiapatita, tecnologicamente viáveis e desenvolvidos para minimizar os efeitos secundários do procedimento clareador. Com isso, novos processos tecnológicos devem ser desenvolvidos, para otimizar esse tipo de tratamento odontológico.

Descrição da Abordagem do Problema

08 A presente invenção relata o desenvolvimento de novos materiais clareadores contendo nanopartículas de hidroxiapatita, com propriedades adequadas para propósitos odontológicos. Essas nanopartículas foram

desenvolvidas pelo processo sol-gel para a incorporação em clareamentos dentais com a finalidade de diminuir ou evitar os efeitos secundários decorrentes do uso dos sistemas clareadores, sem interferir na eficácia dos produtos. As nanopartículas de hidroxiapatita são consideradas importantes materiais biocompatíveis e bioativos, compreendendo, em porcentagem em peso, entre 0 e 15 por cento de nitrato de cálcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$, entre 0 e 3 por cento de ácido fosfórico (H_3PO_4) e entre 0 e 20 por cento de hidróxido de amônio (NH_4OH). Destaca-se que o resultado da remineralização do esmalte ou de outras estruturas do dente por meio do uso das nanopartículas de hidroxiapatita depende do método usado para a preparação, assim como da porcentagem de material, do protocolo de aplicação, do pH, entre outros fatores.

09 Entre os diferenciais desta invenção, é importante mencionar que as nanopartículas de hidroxiapatita utilizadas foram criteriosamente selecionadas, com o propósito de oferecer o melhor efeito na prevenção da sensibilidade dentária, decorrentes do uso de agentes clareadores odontológicos. As nanopartículas de hidroxiapatita sintetizadas, quando incorporadas no sistema clareador, promoveram a manutenção da microdureza superficial do esmalte, da rugosidade dental e da morfologia do esmalte, com a redução da permeabilidade do agente clareador até a câmara pulpar. Com isso, as nanopartículas apresentaram uma melhor compatibilidade com o complexo dentino-pulpar, evitando assim, perdas significativas das propriedades mecânicas e físicas da superfície dental. O tamanho na ordem nanométrica desses materiais asseguraram uma vantagem adicional, a de não alterar as propriedades clareadoras do produto.

10 Portanto, a presente invenção permite superar os desafios tecnológicos existentes para a incorporação dos nanomateriais na composição dos clareadores dentais, assegurando a manutenção da função primária do mesmo. O sistema clareador proposto pode ser a base de peróxidos, perborato, percarbonato, clorito de metal, peroxiácido, persulfato, carbamida, hipoclorito, dióxido de cloro ou uma mistura dos anteriores. O sistema clareador em gel pode incluir um material polimérico. Este material polimérico pode ser polivinilpirrolidona, celulose ou celulose modificada, poli(álcool vinílico), polioxietileno, polietilenoglicol, poli(ácido acrílico), poliacrilato, carbômero, poli(acetato de vinila), alginato de sódio, gelatina,

polissacarídeo natural, copolímero do ácido sulfônico acriloldimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado, poliacrilamida, ou suas misturas. O polímero pode ter uma viscosidade Brookfield variando entre 20000 e 100000 mPa.s a 20 rpm.

11 Além disso, o sistema clareador pode conter saborizantes, edulcorantes, corantes, ativadores de peróxido, agentes de limpeza, agentes de prevenção de manchas, agentes antibacterianos, agentes antigengivites, agentes anticáries, agentes antiperiodontites e agentes para a sensibilidade dos dentes, os quais podem ser usados em qualquer uma das composições.

12 No método proposto, o produto deve entrar em contato direto com a estrutura do esmalte dental, sem interessar qual for o método de aplicação, por exemplo, placas, tiras, gel, solução, colutório, entre outros. As nanopartículas em combinação com agentes clareadores são eficazes para clarear e mineralizar os dentes, o que, significa, que a composição aqui descrita para clareamento dos dentes, em contato por um certo período de tempo, sendo em uma única ou múltiplas aplicações, com uma frequência específica durante um intervalo de tempo, consiga gerar um clareamento efetivo e diminuindo assim os efeitos secundários do procedimento.

13 O clareamento pode ser usado em diferentes modalidades, sendo que as composições podem permanecer por mais de 10 segundos na superfície dental, durante mais de 1 minuto até 12 horas, como ocorre nos clareamentos durante a noite. As aplicações também podem ser realizadas de 2 a 120 minutos, ou em quaisquer outras modalidades de tempo que sejam necessárias. A duração e a frequência de aplicação dependem do efeito que se deseja, do quadro de manchas dentais que o paciente apresenta, da idade, do consumo de produtos que aumentam o manchamento dental e da saúde do paciente.

14 Para aumentar ainda mais o potencial remineralizante da composição, outros nanomateriais ou biomateriais podem ser acrescentados na composição, baseados em sílica, cálcio, potássio, oxalato e fosfato, entre outros. Esses materiais, associados a nanopartículas de HaP (Hidroxiapatita) podem auxiliar no aumento da dureza do esmalte dental e, com isso contribuir para a diminuição da sensibilidade dentaria por peróxidos clareadores.

Citação das Figuras

15 As figuras em anexo servirão para o melhor entendimento do presente pedido de patente de invenção. A Figura 1 mostra a permeabilidade do peróxido de hidrogênio dos grupos experimentais na câmara pulpar. A Figura 2 mostra a efetividade dos clareadores, analisada por meio da escala de cor VITA*classic*.

Descrição Detalhada da Invenção

16 A pureza da solução de H_2O_2 foi previamente verificada, utilizando-se a análise quantitativa permanganométrica. Para tanto, foi preparada uma solução de permanganato de potássio (KMnO_4) aproximadamente a 0,02 mol/L, pesando-se 3,20 g do sal e completando-se o volume, com água destilada, em balão volumétrico de 1000 mL. Após, essa solução foi devidamente padronizada, utilizando-se oxalato de sódio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$), como padrão primário, previamente dessecado em estufa por 2h a 105°C e conservado em dessecador. Uma massa de 0,1300g de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ foi pesada e, cuidadosamente, transferida para um erlenmeyer de 250 mL, juntando-se 25 mL de água destilada e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). O sistema foi aquecido até 80°C e titulado com a solução de KMnO_4 , em agitação constante, até que o conteúdo do erlenmeyer se tornasse levemente róseo, persistente por mais de 30 s. Considerando que cada mL da solução de KMnO_4 0,02 mol/L equivale a 6,6007 mg de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, calculou-se a concentração molar da solução de KMnO_4 e determinou-se o fator de correção.

17 Uma vez preparada e padronizada a solução de KMnO_4 , realizou-se o doseamento do H_2O_2 , transferindo-se uma alíquota de 1,00 mL da solução de H_2O_2 para um balão volumétrico de 100 mL, o qual foi completado com água destilada. Uma alíquota de 10,00 mL desta solução preparada foi colocada em um erlenmeyer de 250 mL. Em seguida, adicionou-se 10 mL de uma solução de H_2SO_4 1 mol/L, titulando-se com a solução padronizada de KMnO_4 0,02 mol/L, até que a solução adquirisse uma coloração rósea permanente. Considerando que cada mL da solução de KMnO_4 0,02 mol/L padronizada equivale a 1,701 mg de H_2O_2 , obteve-se a concentração da solução de H_2O_2 adquirida do fornecedor.

18 Conhecendo-se a concentração real da solução de H_2O_2 , a mesma foi padronizada para a concentração de 50%, por diluição simples, empregando água purificada por sistema de osmose reversa.

19 Para a obtenção do peróxido de carbamida 37,5%, em béquer plástico, foram pesados 60,02 g de ureia e 70,85 g da solução de PH 50%, previamente padronizada. Com o auxílio de um gral e de um pistilo, a ureia foi triturada a pó, transferida para um béquer, sendo adicionado o PH e 50 mL de água ultrapura. O sistema foi aquecido em banho-maria, sem ultrapassar 35°C, até a dissolução completa da ureia. Após 24 h em repouso, protegido da luz, os cristais foram filtrados e armazenados em frasco plástico opaco, sob refrigeração (4 a 8°C).

20 A preparação do gel de PC 37,5%, conforme indicado na Tabela 1, foi realizada de acordo com a técnica geral de incorporação de sólidos em géis aquosos.

Tabela 1. Fórmula do gel de peróxido de carbamida 37,5%

Composição	Quantidade
Gel de Carbopol EDT 2020 (DEG, São Paulo, Brasil) 2,5%	62,5%
Cristais de peróxido de carbamida 37,5%	q.s.p. 50 g

21 Para tanto, os cristais de PC previamente sintetizados foram triturados cuidadosamente em gral, com o auxílio de um pistilo. Após, o gel de Carbopol EDT 2020 foi adicionado. A formulação foi homogeneizada e acondicionada em seringas plásticas opacas para uso em clareamento dental. Essas seringas foram armazenadas sob refrigeração (4 a 8 °C) até a utilização.

22 Para a obtenção das nanopartículas de HaP, um volume de 150 mL de solução aquosa de nitrato de cálcio a 26,6% (m/m) foi misturado lentamente com uma solução aquosa de fosfato de amônio $[(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4]$, previamente obtida com 7 mL de H_3PO_4 , 165 mL de NH_4OH e 228 mL de água purificada, em temperatura de 50°C, durante um período de 60 minutos, em agitador magnético com aquecimento, a uma velocidade de 100 rpm. A solução resultante foi aquecida até 100°C por um período de 60 minutos, com agitação vigorosa. O gel resultante foi liofilizado por 72

h para a obtenção das nanopartículas de HaP (Sadat-Shojai et al. ⁸ 2013). As nanopartículas de HaP foram incorporadas de 1 a 10% no gel de PC 37,5% previamente obtido.

23 Após a aplicação em dentes humanos, os valores de microdureza Knoop foram obtidos, representados em KHN, antes e depois do tratamento. Comparando-se os valores de microdureza inicial e final para cada grupo experimental, o grupo 37,5%PC revelou uma diminuição significativa ($p < 0,05$), com redução média de 296,54 KHN para 275,92 KHN. Os outros grupos não mostraram uma diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) na comparação dos valores de microdureza inicial e final, indicando que o uso das nanopartículas de hidroxiapatita foi capaz de evitar a redução estatística da microdureza superficial do esmalte.

24 Comparando-se os valores de rugosidade (Ra) inicial e rugosidade final para cada grupo experimental, foi verificada uma redução significativa da rugosidade média apenas para o grupo 37,5%PC ($p < 0,05$), o qual apresentou uma diminuição de $0,023 \pm 0,006 \mu\text{m}$ de Ra inicial para $0,016 \pm 0,005 \mu\text{m}$ de Ra final. Para os demais grupos, o que inclui a formulação contendo as nanopartículas de hidroxiapatita, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

25 As concentrações de PH que atingiram as câmaras pulpares dos dentes submetidos ao procedimento de clareamento, por 45 min em 3 dias consecutivos, estão demonstradas na Figura 1. O grupo 37,5%PC apresentou maior concentração de PH nas câmaras pulpares, quando comparado com o grupo 37,5%PC+5%HaP. Para o grupo controle, contendo apenas o gel, não houve permeabilidade do PH para a câmara pulpar, como esperado.

26 Com o propósito de confirmar o potencial clareador da formulação contendo nanopartículas de hidroxiapatita, foi realizada a medida do espectro de cor com o auxílio do espectofotômetro VITA Easyshade. A comparação intra grupos das cores iniciais comparadas com as cores finais, foi verificada, resultando que para os grupos 37,5%PC e 37,5%PC+5%HaP houve uma diminuição significativa nos valores da escala VITA ($p < 0,05$). Ao realizar a comparação inter grupos, não foram encontradas diferenças estatísticas entre o grupo 37,5%PC e 37,5%PC+5%HaP

($p > 0,05$), demonstrado que as nanopartículas de hidroxiapatita não prejudicaram o efeito clareador do produto utilizado.

27 Dessa forma, a incorporação das nanopartículas de hidroxiapatita ao gel de PC 37,5% mantiveram a estabilidade do mesmo, permitindo a aplicação como sistema clareador. O agente clareador PC 37,5% promoveu a diminuição da microdureza superficial do esmalte dental, sendo que a formulação contendo as nanopartículas de hidroxiapatita não geraram diminuição, nem o aumento, da microdureza superficial do esmalte dental. A aplicação do agente clareador PC 37,5% causou a diminuição da rugosidade superficial do esmalte dental, enquanto que o produto com nanopartículas de hidroxiapatita não acarretaram mudanças significativas na rugosidade superficial do esmalte dental. A aplicação do agente clareador PC 37,5% gerou maior mudança na morfologia superficial do esmalte dental, fato não verificado com a formulação contendo as nanopartículas de hidroxiapatita. O gel de PC 37,5% promoveu uma maior passagem de PH para a câmara pulpar, sendo que a incorporação de nanopartículas de hidroxiapatita ao gel de PC 37,5% diminuiu a permeabilidade de PH para a câmara pulpar. A incorporação de nanopartículas de hidroxiapatita ao gel de PC 37,5%, não promoveu uma interferência no efeito clareador do PC 37,5%.

REIVINDICAÇÕES**PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DE SISTEMAS CLAREADORES DENTAIS
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA**

1. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, caracterizado pelo processo sol-gel, compreendendo, em porcentagem em peso, entre 0 e 15 por cento de nitrato de cálcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$, entre 0 e 3 por cento de ácido fosfórico (H_3PO_4) e entre 0 e 20 por cento de hidróxido de amônio (NH_4OH);
2. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo uso de peróxidos, perborato, percarbonato, clorito de metal, peroxiácido, persulfato, carbamida, hipoclorito, dióxido de cloro ou uma mistura dos anteriores como agente(s) clareador(es);
3. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo uso de polivinilpirrolidona, celulose ou celulose modificada, poli(álcool vinílico), polioxietileno, polietilenoglicol, poli(ácido acrílico), poliacrilato, carbômero, poli(acetato de vinila), alginato de sódio, gelatina, polissacarídeo natural, copolímero do ácido sulfônico acriloldimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado, poliacrilamida, ou suas misturas como material(ais) polimérico(s);
4. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, de acordo com as reivindicações 1 a 3, caracterizado pela aplicação do produto de 1 minuto até 12 horas no clareamento à noite e de 2 a 120 minutos para a aplicação em consultório;
5. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, de acordo com as reivindicações 1 a 4, caracterizado pela redução do peróxido de hidrogênio que atinge a polpa dental;
6. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, de acordo com as reivindicações 1 a 4,

caracterizado pela preservação da estrutura dental, por impedir alterações na microdureza, rugosidade e morfologia do esmalte dental;

7. Processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, de acordo com as reivindicações de 1 a 4, caracterizado pela propriedade clareadora inalterada.

RESUMO

**PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DE SISTEMAS CLAREADORES DENTAIS
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA**

A presente invenção refere-se ao processo de obtenção e uso de sistemas clareadores dentais contendo nanopartículas de hidroxiapatita, com o propósito de evitar os efeitos secundários recorrentes do contato direto entre o clareador e a superfície dental. O uso das nanopartículas, em quantidade eficaz, permite o clareamento dental efetivo, somando-se as vantagens de reduzir a permeabilidade do peróxido de hidrogênio ou outro agente clareador substituto até a câmara pulpar, o que diminui a sensibilidade dentária, e de evitar alterações na microdureza superficial, na rugosidade superficial e na morfologia superficial do esmalte dental, mantendo a eficácia clareadora do produto.