

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Geruza Corrêa do Amaral Ribeiro

**AVALIAÇÃO DO ESMALTE DENTAL BOVINO
APÓS CLAREAMENTO EM BAIXAS
CONCENTRAÇÕES E REMINERALIZAÇÃO POR
MEIO DE MICRODUREZA**

Taubaté – SP
2014

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Geruza Corrêa do Amaral Ribeiro

**AVALIAÇÃO DO ESMALTE DENTAL BOVINO
APÓS CLAREAMENTO EM BAIXAS
CONCENTRAÇÕES E REMINERALIZAÇÃO POR
MEIO DE MICRODUREZA**

Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre pelo programa de pós-graduação em Odontologia da Universidade de Taubaté.

Área de concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Marcos Augusto do Rego

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni

Taubaté – SP
2014

Ficha catalográfica elaborada por
Liliane Castro – Bibliotecária CRB-8/6748

R484a Ribeiro, Geruza Corrêa do Amaral
Avaliação do esmalte dental bovino após clareamento em baixas concentrações e remineralização por meio de microdureza / Geruza Corrêa do Amaral Ribeiro. - 2014.
48f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Taubaté, Departamento de Pós-graduação em Odontologia, 2014.

Orientação: Profa. Prof. Dr. Marcos Augusto do Rego, Departamento de Pós-graduação em Odontologia.

Co-orientadora: Profª. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni, Departamento de Pós-graduação em Odontologia.

1. Clareamento Dental. 2. Peróxido de Hidrogênio. 3. Remineralização Dentária. 4. Esmalte Dentário. 5. Microscopia Eletrônica de Varredura. I. Título.

GERUZA CORRÊA DO AMARAL RIBEIRO

Data: 09/12/2014

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marcos Augusto do Rego

Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof^a. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni

Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof^a. Dra. Ilene Cristine Rosia Cesar

Universidade do Vale do Paraíba

Assinatura _____

Dedico este trabalho...

A **Deus**, que sempre guiou meus passos, amparou os meus anseios e me deu toda a força e coragem para chegar até aqui. Agradeço por todas as bênçãos recebidas em minha vida.

Aos meus pais, **Niécio e Iracema**, por serem o meu porto seguro. Vocês são meus grandes exemplos de força, alegria, honestidade, perseverança, retidão de conduta e caráter. Agradeço por todo o amor, carinho, dedicação, apoio, incentivo incondicional e pelas oportunidades a mim concedidas.

Aos meus queridos irmãos, **Carolina e Thiago**, pela verdadeira amizade que nos une, por todo o amor, incentivo, alegria e por sempre serem presentes em minha vida. Obrigada por confiarem em mim e acreditarem no meu sucesso.

Ao meu noivo, **Gabriel**, por todo amor, companheirismo e apoio incondicional nos momentos bons e difíceis. Agradeço pela paciência e compreensão durante esta etapa. Obrigada por compartilhar todos os momentos da minha vida, tornando-a com um brilho mais que especial! Amo você!

Aos meus avós paternos, **Porfírio** (in memoriam) e **Zuleida**, e avós maternos, **José** (in memoriam) e **Nezolina**, (in memoriam) por serem grandes exemplos na criação de suas famílias, filhos e netos, imprimindo aos seus descendentes a busca e a vontade pelo conhecimento. Esta a maior herança que se deixa a um ser humano!

A vocês, pessoas mais importantes da minha vida, dedico este trabalho!

Eu amo todos vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Marcos Augusto do Rego**, pela oportunidade de aprendizado, orientação, compreensão e pela confiança em mim depositada. Agradeço pelo engrandecimento e contribuição na minha vida profissional.

A Profa. **Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni**, agradeço pela amizade construída e por acreditar em mim, me mostrando o caminho a ser trilhado. Pela orientação segura e competente, pela paciência com meus erros e pelo entusiasmo com meus acertos. Por estar sempre pronta a resolver qualquer dificuldade, pela dedicação e profissionalismo. Você sempre fará parte da minha vida!

À **Universidade de Taubaté**, na pessoa do seu Reitor **Prof. Dr. José Rui Camargo** e na pessoa do coordenador do programa de pós-graduação em Odontologia **Prof. Dr. José Roberto Cortelli**, pela participação desta instituição no meu crescimento pessoal, científico e profissional.

A coordenadora adjunta do programa de pós-graduação em Odontologia, **Profa. Dra. Ana Christina Claro**, pela atenção dispensada, pela organização, respeito e disponibilidade.

Aos **professores do Mestrado em Odontologia**, pelos conhecimentos transmitidos e dedicação na sua tarefa de formar mestres.

Aos **colegas de turma** pela oportunidade de tê-los conhecido e pelo convívio em momentos tão diversos.

Aos **funcionários da pós-graduação em Odontologia da Universidade de Taubaté**, em especial a secretária **Adriana Pellógia**.

Ao Prof. **Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar** e aos alunos do mestrado e doutorado em dentística da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, **Jéssica**

Theobaldo, Núbia Pini, Marília Zeczowski, Waldemir Vieira, Maria Jordão, Anderson Catelan, Cristiane Fujiwara, pela disponibilidade, prontidão e auxílio na realização dos experimentos deste trabalho.

Ao amigo e colega de trabalho, **Prof. Me. Paulo Roberto Marão de Andrade Carvalho**, pela convivência diária, apoio, incentivo, compreensão nos momentos de ausência, paciência e companheirismo durante toda esta etapa.

A **Profa. Dra. Eloá de Aguiar Gazola**, pela inspiração, por ter me conduzido e incentivado a realizar o mestrado em Odontologia na Universidade de Taubaté. Agradeço por sempre se interessar e se fazer presente na minha formação profissional.

Aos amigos, familiares, colegas de trabalho e a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão desta etapa.

Ainda há muito a agradecer, mesmo aqueles que não foram nomeados, contudo me incentivaram e motivaram com seus inestimáveis apoios em diferentes momentos desta pesquisa o meu reconhecimento! Obrigada por permitirem que esta dissertação seja uma realidade!

"Tua caminhada ainda não terminou...
A realidade te acolhe
dizendo que pela frente
o horizonte da vida necessita
de tuas palavras
e do teu silêncio.

Se amanhã sentires saudades,
lembra-te da fantasia e
sonha com tua próxima vitória.
Vitória que todas as armas do mundo
jamais conseguirão obter,
porque é uma vitória que surge da paz
e não do ressentimento.

É certo que irás encontrar situações
tempestuosas novamente,
mas haverá de ver sempre
o lado bom da chuva que cai
e não a faceta do raio que destrói.

Tu és jovem.
Atender a quem te chama é belo,
lutar por quem te rejeita
é quase chegar a perfeição.
A juventude precisa de sonhos
e se nutrir de lembranças,
assim como o leito dos rios
precisa da água que rola
e o coração necessita de afeto.

Não faças do amanhã
o sinônimo de nunca,
nem o ontem te seja o mesmo
que nunca mais.
Teus passos ficaram.
Olhes para trás...
mas vá em frente
pois há muitos que precisam
que chegues para poderem seguir-te.

Charles Chaplin

Ribeiro GCA. Avaliação do esmalte dental bovino após clareamento em baixas concentrações e remineralização por meio de microdureza [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2014. 48p.

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos do clareamento com peróxido de hidrogênio (PH) 9,5%, com e sem a adição de Cálcio, e de agentes remineralizantes no esmalte bovino por meio dos ensaios de microdureza Knoop. **Metodologia:** Blocos de esmalte bovinos (5mm²) foram preparados e divididos aleatoriamente em seis grupos experimentais (n=16) e submetidos a diferentes tratamentos. Os grupos G1, G3 e G5 foram clareados por trinta minutos/dia durante 14 dias com PH 9,5% e os grupos G2, G4 e G6 foram clareados com PH 9,5% com a adição de Cálcio, pelo mesmo tempo. Após o clareamento os espécimes dos grupos G3 e G4 foram remineralizados com Clinpro XT e os grupos G5 e G6 foram remineralizados com Desensibilize Nano P por sete dias, de acordo com as recomendações dos fabricantes. Todos os espécimes foram submetidos ao ensaio de microdureza superficial Knoop antes do clareamento (leitura inicial), após o tratamento clareador (leitura intermediária) e após a remineralização (leitura final). Em seguida, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada em duas amostras de cada grupo para ilustrações da morfologia superficial do esmalte antes e após os tratamentos. **Análise Estatística:** Os dados foram analisados estatisticamente por meio do teste de Shapiro-Wilk para se verificar a normalidade das amostras e em seguida análise de Variância com Medidas Repetidas ($\alpha=0,05$) e Teste de Tukey ($\alpha=0,05$). **Resultados:** Os resultados mostraram haver diferenças significativas entre os géis testados, sendo que o gel com a adição de Cálcio apresentou valores de microdureza superiores em comparação ao gel sem Cálcio. Houve diferença estatística significativa entre as leituras iniciais e intermediárias para todos os grupos estudados. Observou-se aumento da microdureza do esmalte para todos os grupos independente do tipo de remineralização. **Conclusão:** Concluiu-se que os agentes clareadores estudados diminuíram a microdureza Knoop do esmalte após o clareamento, sendo que o clareador com Cálcio promoveu menor alteração de microdureza. Concluiu-se também que a remineralização foi efetiva e promoveu um aumento nos valores da microdureza independente do agente remineralizante utilizado.

Palavras-chaves: Clareamento Dental; Peróxido de Hidrogênio; Remineralização Dentária; Esmalte Dentário; Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ribeiro GCA. Evaluation of bovine enamel after bleaching at low concentrations and remineralization with different agents using microhardness [Thesis]. Taubaté: University of Taubaté, Graduate Program in Dentistry, 2014. 48p.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects of bleaching with hydrogen peroxide (HP) 9.5%, with and without the addition of calcium, and remineralizing agents in enamel through the Knoop microhardness tests. **Methodology:** bovine enamel blocks (5mm²) were prepared and randomly divided into 6 experimental groups (n=16) and subjected to different treatments. The groups G1, G3 and G5 were bleached for thirty minutes/day for 14 days with 9.5% PH and G2, G4 and G6 were bleached with 9.5% PH with the addition of calcium at the same time. After bleaching specimens of G3 and G4 were remineralized with Clinpro XT and G5 and G6 were remineralized with Desensibilize Nano P for seven days, according to the manufacturers' recommendations. All specimens were subjected to testing Knoop microhardness before the treatment (initial reading), after the bleaching treatment (intermediate reading) and after remineralization (final reading). Then, the scanning electron microscopy (SEM) was performed on two samples from each group of graphics enamel surface morphology before and after treatments. **Statistical Analysis:** Data were analyzed statistically using the Shapiro-Wilk test to verify the normality of the samples and then Variance analysis with repeated measures ($\alpha=0.05$) and Tukey's test ($\alpha=0.05$). **Results:** The results showed no significant differences between the tested gels, wherein the gel with addition of calcium had higher hardness values compared to the gel without calcium. There was a significant statistical difference between the initial and intermediate readings for all groups. There was an increase of enamel hardness for all independent groups of the type of remineralization. **Conclusion:** We conclude that the studied bleaching agents decreased enamel microhardness Knoop after bleaching, and bleaching with Calcium promoted minor variation of microhardness. It is also concluded that the remineralization was effective and promoted an increase in the values of the independent microhardness remineralizing agent used.

Keywords: Tooth Bleaching; Hydrogen Peroxide; Tooth Remineralization; Dental Enamel; Microscopy, Electron, Scanning.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
3 PROPOSIÇÃO	24
3.1 OBJETIVOS GERAIS	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	25
4.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	25
4.3 OBTENÇÃO DOS BLOCOS	26
4.4 DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	27
4.5 ENSAIO DE MICRODUREZA KNOOP	28
4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	29
4.8 CLAREAMENTO	29
4.9 AGENTES REMINERALIZANTES	30
5 RESULTADOS	32
5.1 MICRODUREZA KNOOP	32
5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	34
6 DISCUSSÃO	41
7 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO	48

1 INTRODUÇÃO

A busca por um sorriso harmonioso e saudável tem sido uma constante preocupação dos profissionais da odontologia e principalmente dos pacientes, que estimulados pelos meios de comunicação associam estética e saúde a dentes brancos. Tonalidades mais claras dos dentes, sua forma de contorno e alinhamento são associados a um padrão de beleza e saúde (Cavalli et al., 2004; Alves et al., 2007; Basting et al., 2007).

As alterações cromáticas dos dentes representam um importante fator na estética do sorriso. Em vista disso, têm sido desenvolvidos novos produtos, como agentes clareadores e novas técnicas restauradoras adesivas. Dentre os agentes clareadores e técnicas mais comumente utilizadas para dentes vitais, pode-se utilizar peróxido de hidrogênio e carbamida em baixas concentrações para a técnica caseira supervisionada; e géis de altas concentrações para técnica de consultório.

Na técnica caseira supervisionada descrita inicialmente por Haywood & Heyman (1989), o uso do gel clareador era de oito horas, durante quatro semanas, com o aprimoramento da técnica, hoje este tempo foi reduzido por um período de quatro horas. Outros agentes podem ser utilizados no período de trinta minutos a duas horas, dependendo de sua concentração (Mokhlis et al., 2000). Independentemente da técnica ou do produto utilizado, o mecanismo de ação dos agentes clareadores ocorre através de um complexo processo de oxidação que libera radicais livres resultantes das moléculas do peróxido de carbamida e do peróxido de hidrogênio. Por fim, estes radicais livres atingem a dentina, através dos prismas de esmalte, e quebram as moléculas orgânicas responsáveis pela cor dos dentes (Kwon et al., 2002; Tredwin et al., 2006).

O clareamento é considerado um procedimento seguro, eficaz e conservador desde que seja realizado um correto diagnóstico e um plano de tratamento adequado (Faraoni-Romani et al., 2008). No entanto, apesar de bons resultados clínicos, o uso do clareamento tem sido associado com a diminuição da resistência ao desgaste, aumento da rugosidade superficial, diminuição dos valores de microdureza e alterações morfológicas nas estruturas mineralizadas dos dentes (Pinto et al., 2004; Lewinstein et al., 2004; Basting et al., 2007). Possíveis alterações superficiais podem ser atribuídas a alterações na composição mineral, esmalte e dentina, após o tratamento clareador com agentes a base de peróxido, provavelmente pela diminuição de cálcio e de fósforo (McCracken & Haywood, 1996).

Tem-se sugerido alterações na composição de agentes clareadores, como inclusão de cálcio, melhorando assim seu efeito remineralizador, ou tratamentos mineralizantes pós-clareamento a fim de minimizar possíveis efeitos no esmalte e dentina, diminuindo assim a desmineralização e aumentando a remineralização (Manton et al., 2008).

Alguns estudos têm relatado que a adição de cálcio nos agentes clareadores poderia minimizar os possíveis efeitos no esmalte dental, porém os resultados ainda são conflitantes (De Oliveira et al., 2005; Borges et al., 2010). Em vista disso, este estudo pretende avaliar os efeitos do clareamento com peróxido de hidrogênio a 9,5% com e sem a adição de Cálcio e de agentes remineralizantes por meio dos ensaios de microdureza e microscopia eletrônica de varredura.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Bistey et al. (2007) realizaram um estudo in vitro com o objetivo de determinar a alteração no esmalte humano após o tratamento com peróxido de hidrogênio a 10%, 20% e 30%, por meio da espectroscopia FT-IR. Os espécimes (n=10) foram divididos em três grupos de acordo com a concentração do peróxido. O tempo total do clareamento foi de 120 min. e a espectroscopia foi realizada antes e após trinta, sessenta e 120 minutos. Outra análise foi realizada uma semana depois. Os resultados indicaram a presença de alterações no esmalte e estas foram proporcionais ao tempo de tratamento e a concentração do peróxido. Não foi detectada a reversão espontânea da estrutura do esmalte na espectroscopia realizada uma semana após. Os autores concluíram que os agentes clareadores contendo peróxido são capazes de provocar alterações no esmalte em concentrações baixas e elevadas e recomendam que o clareamento seja realizado com baixa concentração de peróxido de hidrogênio e carbamida por um curto tempo de tratamento.

Sasaki et al. (2009) analisaram a microdureza e a morfologia de superfície do esmalte dental humano submetido ao clareamento caseiro com peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio a 7,5%. Os blocos de esmalte (n=10) receberam os agentes clareadores 1h por dia durante um período de 21 dias. Concluiu-se que com este protocolo o peróxido de carbamida a 10% e o peróxido de hidrogênio a 7,5% podem conduzir a alterações na micromorfologia superficial do esmalte, porém sem alterar a microdureza.

Ushigome et al. (2009) analisaram a influência do tratamento com peróxido de hidrogênio a 30% e peróxido de carbamida 10%, durante trinta ou 180 minutos, na

superfície do esmalte bovino. Foram preparados 67 dentes bovinos e destes, 27 foram utilizados para a avaliação da morfologia e rugosidade de superfície e os outros quarenta dentes foram utilizados para os ensaios de nanodureza e observação da morfologia de secção transversal. Os autores puderam concluir que a rugosidade superficial aumentou devido à dissolução dos componentes do esmalte e também que, a erosão aumentou com o aumento do tempo de imersão em peróxido de carbamida ou hidrogênio. Com relação à nanodureza os autores também puderam concluir que uma diminuição parcial na nanodureza foi observada a 20µm abaixo da superfície mais externa do esmalte, porém nenhuma diminuição da nanodureza foi observada a 50µm, independentemente do tipo, da concentração e do tempo de imersão nos peróxidos estudados.

Borges et al. (2009) investigaram o efeito da adição de cálcio e fluoreto no gel de peróxido de hidrogênio a 35% na microdureza superficial e subsuperficial do esmalte. Vinte terceiros molares foram extraídos e seccionados para obtenção dos fragmentos de esmalte. Os fragmentos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n=20) de acordo com o tratamento clareador. O grupo 1 não recebeu nenhum tratamento clareador (controle). O grupo 2 foi clareado com peróxido de hidrogênio a 35% (Total Bleach). Os grupos 3 e 4 foram tratados com Total Bleach com a adição de fluoreto e cloreto de cálcio, respectivamente. O ensaio de microdureza da superfície do esmalte foi realizado com o microdurometro Vickers, imediatamente após o clareamento. Para a avaliação da microdureza da subsuperfície as amostras foram seccionadas na porção central, polidas e avaliadas na profundidade de 125µm com 25µm de distância entre as medidas. Os autores concluíram que o clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% resultou na diminuição dos valores de microdureza superficial e subsuperficial do esmalte e que

a adição de agentes remineralizantes, como o fluoreto e o cálcio, no agente clareador aumentou os valores de microdureza do esmalte clareado.

Mondelli et al. (2009) avaliaram o desgaste e a rugosidade superficial do esmalte bovino após três diferentes técnicas de clareamento e escovação simulada. Primeiramente, as amostras foram submetidas ao ensaio de rugosidade de superfície inicial (Ra) e foram divididas em quatro grupos (n=10). Grupo 1, controle; grupo 2, clareado com peróxido de hidrogênio 35% (HP) ativado por luz híbrida; grupo 3, 35% HP ativado por luz halógena e grupo 4, clareado com peróxido de carbamida a 16%. Após o tratamento clareador, a rugosidade de superfície foi medida e os dentes foram submetidos a 100,000 ciclos de escovação simulada. Posteriormente a escovação simulada, a rugosidade de superfície foi avaliada novamente. A partir da análise dos resultados, os autores concluíram que o clareamento em si não aumenta significativamente a rugosidade superficial do esmalte e também que após a escovação simulada, os valores da rugosidade de superfície foram maiores para o grupo do clareamento caseiro do que para o grupo do clareamento de consultório ativado por luz híbrida.

Martin et al. (2010) verificaram o efeito de terapias de flúor sobre a rugosidade do esmalte dental humano exposto a agentes clareadores. Para a realização do estudo in vitro foram utilizadas 66 amostras obtidas de 33 terceiros molares. Antes de qualquer tratamento, as amostras foram submetidas à leitura inicial de rugosidade de superfície (baseline – RaB). Posteriormente, as amostras foram distribuídas em 11 grupos e expostas a um dos agentes clareadores – peróxido de carbamida 16%, quatro horas durante 21 dias (CP) ou peróxido de hidrogênio 35%, durante três semanas e três aplicações por semana (HP); e uma das terapias de flúor – 0,05% NaF diariamente (DF); 0,2% NaF semanalmente (WF); 2% flúor tópico

final (FTF); ou 2% flúor tópico inicial e final (IFTF). O grupo controle positivo não recebeu nenhum tratamento clareador e nenhuma terapia de flúor. Já as amostras do grupo controle negativo foram submetidas apenas ao tratamento clareador. A leitura final de rugosidade de superfície (RaF) foi realizada após armazenamento das amostras em saliva artificial por sete dias. Após análise estatística, os autores concluíram que ambos os agentes clareadores testados aumentaram a rugosidade superficial do esmalte e também que todas as terapias de flúor avaliadas foram efetivas na redução do aumento da rugosidade superficial após o clareamento.

Borges et al. (2010) investigaram a influência do pH do gel clareador, o efeito da aplicação de géis remineralizantes após o clareamento e o efeito da saliva artificial na microdureza do esmalte. Para a realização do estudo *in vitro*, setenta incisivos bovinos foram divididos em três grupos. O grupo 1 (n=10) não recebeu nenhum tratamento (grupo controle), o grupo 2 (n=30) foi clareado com um gel neutro de peróxido de hidrogênio a 35% e o grupo 3 (n=30) foi clareado com um gel ácido de peróxido de hidrogênio. Cada grupo experimental foi subdividido em três grupos (n=10) de acordo com o tratamento realizado após o clareamento: armazenamento em saliva artificial, aplicação de um gel de fluoreto e aplicação de um gel combinado com cálcio e flúor. Os espécimes foram armazenados em saliva artificial por sete, 15 e trinta dias e a microdureza foi avaliada. Os autores concluíram que o clareamento com um gel clareador ácido resultou na diminuição nos valores de microdureza em comparação ao grupo controle, porém a microdureza aumentou com o uso de géis remineralizantes e com relação à saliva artificial concluíram que esta não afetou a microdureza do esmalte.

De Abreu et al. (2011) avaliaram a influência do fosfato de cálcio amorfo adicionado ao peróxido de hidrogênio a 7,5% e 9,5% e diferentes concentrações dos

agentes clareadores caseiros e de consultório, na microdureza e na rugosidade de superfície do esmalte. No estudo foram utilizados sessenta blocos de esmalte humanos divididos aleatoriamente em seis grupos e os tempos de avaliação foram antes, durante (sete, 14 e 21 dias) e depois (sete e 14 dias em saliva artificial) do tratamento clareador. Com relação à microdureza, concluíram que os agentes clareadores causaram uma diminuição da microdureza do esmalte, porém os valores foram recuperados após o clareamento mostrando um importante papel da saliva na reposição dos minerais perdidos. O benefício da adição do fosfato de cálcio amorfo para os agentes clareadores na rugosidade de superfície pode ser apenas para diminuir as concentrações do peróxido de hidrogênio em associação com o efeito remineralizante da saliva.

Ferreira et al. (2011) realizaram um estudo in vitro com o objetivo de avaliar qualitativamente a morfologia de superfície do esmalte clareado com peróxido de hidrogênio seguido pela aplicação de agentes fluoretados. Foram utilizados quarenta pré-molares distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (n=10) e tratados da seguinte forma: grupo I (controle) permaneceu armazenado em saliva artificial, grupo II peróxido de hidrogênio a 35%, grupo III peróxido de hidrogênio a 35% e fluoreto acidulado (1.23%) e grupo IV peróxido de hidrogênio e fluoreto neutro (2%). Os grupos experimentais receberam três aplicações do gel clareador e após a última aplicação, todos os espécimes foram polidos. Este tratamento foi repetido após sete e 14 dias e durante os intervalos das aplicações os espécimes foram armazenados em saliva artificial. A investigação qualitativa da microscopia eletrônica de varredura demonstrou que o peróxido de hidrogênio a 35% afetou a morfologia do esmalte dental humano produzindo porosidades, depressões e irregularidades superficiais

em vários graus. Tais alterações foram superiores após a aplicação do gel de flúor acidulado (1.23%).

Tschoppe et al. (2011) avaliaram os efeitos do tratamento diário com diferentes dentifrícios a base de nano-hydroxyapatita (n-HAp) sobre a remineralização do esmalte e lesões subsuperficiais de dentina bovina armazenados em solução remineralizante. As amostras foram desmineralizadas, divididas aleatoriamente em cinco grupos e expostas a uma solução aquosa remineralizante a 37°C por duas e cinco semanas. As escovações foram realizadas com os respectivos dentifrícios/armazenados na solução duas vezes ao dia (2x5s; tempo de contato total 2x120s/d): armazenados apenas em solução remineralizante (0); escovação adicional com B (20wt% carbonato de zinco nano-hidroxiapatita, ZnCO₃/n-HAp); BS (24wt% ZnCO₃/n-HAp); E (0.14wt% fluoreto de amina); ou A (7wt% n-HAp puro). As diferenças na perda mineral ($\Delta\Delta Z$) antes e após o armazenamento/tratamento foram avaliadas microradiograficamente. Os resultados mostraram que os grupos de dentina 0, B, BS e A apresentaram valores $\Delta\Delta Z$ significativamente mais elevados comparados com E ($p < 0,05$; ANOVA). Valores de $\Delta\Delta Z$ do esmalte do grupo A foram significativamente maiores em relação ao grupo E ($p < 0,05$), sendo que não foi observada diferenças significativas entre esse grupo comparados aos grupos 0, B e BS ($p > 0,05$). De acordo com as condições do estudo in vitro, os autores concluíram que os diferentes dentifrícios contendo nano-hidroxiapatita revelaram efeitos remineralizantes semelhantes nas lesões de esmalte e dentina e que efeitos remineralizantes ainda maiores poderiam ser alcançados com dentifrícios a base de nano-hidroxiapatita ou ZnCO₃/n-HAp em comparação ao dentifrício de fluoreto de amina. A partir dos resultados deste estudo, os autores

sugerem que a nano-hidroxiapatita em produtos odontológicos pode ajudar a promover a remineralização.

Dominguez et al. (2012) investigaram os efeitos sobre o esmalte humano após dois procedimentos clareadores: com agente clareador fluoretado e com a aplicação de flúor tópico após o clareamento. Quarenta e três blocos de esmalte foram divididos aleatoriamente em três grupos de acordo com o tratamento clareador: (1) grupo controle, (2) peróxido de hidrogênio a 35% e aplicação tópica de flúor 1.23% e (3) peróxido de hidrogênio a 38% com flúor na composição. Foram utilizadas três metodologias: nanoindentação, microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que a aplicação tópica de flúor, após o uso de um agente clareador não fluoretado, aumentou os valores de erosão e rugosidade do esmalte e a incorporação de fluoreto ao agente clareador ou a sua aplicação tópica não produziu qualquer efeito deletério na nanodureza do esmalte.

De Arruda et al. (2012) avaliaram por meio da microdureza Knoop, microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz polarizada os efeitos do peróxido de hidrogênio a 35% na morfologia do esmalte e interferência no processo De-remineralização. O estudo in situ, utilizou 44 amostras adaptadas a um dispositivo removível utilizado por 11 voluntários submetidos ao desafio cariogênico. Após o desafio cariogênico, todos os grupos apresentaram uma diminuição da microdureza. Já a análise microscópica revelou que as amostras submetidas ao desafio cariogênico associado ao clareamento tiveram alterações histológicas superficiais mais intensas, porém a profundidade das lesões permaneceu inalterada. Os autores concluíram que a aplicação do gel clareador com peróxido de hidrogênio

a 35% intensificou as alterações na superfície das amostras de esmalte bovino que tinham sido submetidas ao desafio cariogênico neste estudo *in situ*.

Borges et al. (2012) avaliaram o efeito de um gel clareador a base de peróxido de hidrogênio a 35% modificado ou não pela adição de cálcio e fluoreto na susceptibilidade do esmalte a erosão. Os espécimes foram divididos em quatro grupos (n=15): controle – sem clareamento (C), peróxido de hidrogênio a 35% (HP), peróxido de hidrogênio a 35% com a adição de 2% de gluconato de (Cálcio HP + Ca) e peróxido de hidrogênio a 35% com a adição de 0.6% de fluoreto de sódio (HP +F). Os géis clareadores foram aplicados na superfície do esmalte por quarenta minutos e os espécimes foram submetidos a desafio erosivo com Sprite Zero e remineralização com saliva artificial por cinco dias. Concluiu-se que a aplicação de agentes clareadores a base de peróxido e hidrogênio a 35% não alteraram a susceptibilidade do esmalte à erosão e que a adição de cálcio ao gel clareador melhora a resistência do esmalte clareado.

Cunha et al. (2012) realizaram um estudo *in vitro* a fim de investigar a eficácia de técnicas de clareamento de consultório associadas com a aplicação de fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) pasta (MI Paste-MI) em diferentes momentos e sua influência nas propriedades da superfície do esmalte. Oitenta coroas bovinas foram divididas aleatoriamente em oito grupos (n=10) e foram clareadas ou com peróxido de hidrogênio 35% (HP) ou com peróxido de carbamida 37% (CP). O tratamento clareador foi realizado por um período de 14 dias durante três sessões separadamente: 1º, 7º e 14º dias. Quatro protocolos diferentes de aplicação de MI foram realizados: sem MI, MI antes do clareamento, MI após o clareamento e MI aplicado tanto antes como após o clareamento. As leituras de cores foram medidas no início do estudo, sete, 14 e 21 por meio do

espectrofotômetro VITA EasyShade utilizando o CIEL * a * b * do sistema (DE, DL *, Da * e Db*). Os ensaios de dureza e rugosidade foram medidos no início do estudo (T0) e imediatamente após o clareamento (T14). Após análise estatística dos dados, os autores concluíram que apesar da eficácia do clareamento não depender do agente clareador, as alterações superficiais negativas foram mais evidentes com o peróxido de carbamida. Com relação à pasta CPP-ACP, os autores concluíram que sua aplicação antes ou antes e depois no clareamento de consultório foi capaz de prevenir alterações negativas de rugosidade e na dureza do esmalte bovino sem afetar adversamente a eficácia do tratamento clareador.

Soares et al. (2013) compararam o efeito de um gel de peróxido de carbamida 16% (CP) e CP 10% na composição do esmalte bovino e na morfologia. Os blocos de esmalte foram submetidos a 14 dias de tratamento por oito horas diárias com os géis de CP 10% ou CP 16%. O ensaio de microdureza Knoop foi realizado antes do clareamento e um, sete e 14 dias após o tratamento, com carga de cinquenta gramas durante 15 segundos. O conteúdo mineral (EDX), rugosidade de superfície e topografia (microscopia de força atômica) foram avaliadas no período de 14 dias. Após a análise estatística dos dados encontrados, os autores concluíram que ambos os géis clareadores utilizados neste estudo reduziram o conteúdo mineral e aumentaram a rugosidade de superfície do esmalte, gerando uma superfície mais irregular e porosa. No entanto, o gel de peróxido de Carbamida 16% induziu alterações mais intensas no esmalte, mesmo após uma única aplicação de 8h.

Carvalho et al. (2013) avaliaram o efeito de diferentes agentes remineralizantes na microdureza do esmalte (KHN) e a topografia da superfície por meio da microscopia de força atômica (MFA) após desafio erosivo. Quarenta e oito espécimes de esmalte humano (4x4mm) foram divididos aleatoriamente em quatro

grupos: controle (nenhum tratamento), verniz fluoretado (Duraphat), pasta de nano fosfato de Cálcio (Desensibilize Nano P) e pasta de fosfopeptídeo caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP). Todas as pastas testadas foram aplicadas por cinco minutos e o verniz fluoretado por 24 horas. Quatro ciclos erosivos diários de cinco minutos de imersão em uma bebida de cola e duas horas de imersão em saliva artificial foram realizados durante cinco dias. O ensaio de microdureza foi realizado no início e cinco dias após. A percentagem de alteração da dureza do esmalte foi realizada após a erosão. Concluíram que apesar de nenhum dos produtos investigados ter proporcionado efeito protetor contra o desenvolvimento de erosão, a pasta de nanofosfato de Cálcio reduziu a erosão, quando comparada aos outros agentes.

Heshmat et al. (2014) compararam os efeitos da pasta de fosfopeptídeo caseína – fosfato de cálcio amorfo com flúor (MI Paste Plus) e Remin Pro sobre a rugosidade de superfície após o clareamento. Trinta amostras de molares humanos foram preparadas para este estudo. Após a avaliação inicial da rugosidade de superfície, as amostras foram clareadas com peróxido de carbamida 37% durante vinte minutos por duas vezes e foram divididas em três grupos com dez amostras cada. No grupo 1, a CPP-ACPF contendo pasta (MI Paste Plus) e no grupo 2, Remin Pro foram aplicadas nas amostras durante 15 dias por cinco minutos, duas vezes ao dia. As amostras do grupo 3 (controle) foram armazenadas em saliva artificial por 15 dias. A rugosidade de todas as amostras foi avaliada no início, após o clareamento e após o estudo de intervenção e analisados estatisticamente. Os autores chegaram à conclusão de que os agentes remineralizantes como a MI Paste Plus e a Remin Pro podem diminuir a rugosidade da superfície do esmalte que tenha sido previamente clareado e que neste estudo, não houve diferença entre a

rugosidade de superfície nas amostras remineralizadas com Mi Paste Plus e Remin Pro.

Carvalho et al (2014) analisaram o efeito protetor dos agentes remineralizantes em lesões de cárie de esmalte por meio do ensaio de microdureza Knoop (KHN) e microscopia de força atômica (AFM). Quarenta e oito blocos de esmalte humano foram distribuídos em quatro grupos (n=12): (1) controle, sem agente; (2) verniz fluoretado (Duraphat); (3) pasta de nano hidroxiapatita (Desensibilize Nano P); e (4) fosfopeptídeo caseína – fosfato de Cálcio amorfo (CPP-ACP) pasta (MI Paste Plus). Lesões de cárie incipiente foram induzidas artificialmente e o desafio cariogênico (ciclagem Ph) foi realizado durante sete dias. As pastas foram aplicadas antes de cada imersão em solução desmineralizante e o verniz foi aplicado somente uma vez. Os valores de microdureza foram obtidos no início do estudo, após a lesão incipiente e após o desafio cariogênico, posteriormente a superfície foi avaliada por microscopia de força atômica. De acordo com os resultados deste estudo os autores puderam concluir que a pasta de nano-hidroxiapatita mostrou um efeito protetor contra o desenvolvimento in vitro da cárie em esmalte.

Shetty et al. (2014) avaliaram a remineralização do esmalte após três agentes remineralizantes diferentes por meio da microdureza de superfície. Para a realização deste estudo in vitro, cinquenta amostras de esmalte foram divididas em cinco grupos com dez amostras cada. O grupo controle positivo apresentava esmalte intacto e o grupo controle negativo possuía esmalte desmineralizado. Todos os grupos, exceto o grupo controle positivo, foram submetidos à desmineralização contínua, no qual três desses grupos foram remineralizados com fosfopeptídeo caseína – fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP), CPP-ACP com flúor (CPP-ACPF) e

fluoreto de sódio. Os grupos tratados com agentes remineralizantes foram submetidos à ciclagem de Ph por 28 dias e em seguida a microdureza de superfície foi avaliada. Os autores concluíram que CPP-ACP remineraliza efetivamente o esmalte em lesões de cáries iniciais, mas em menor escala em comparação com CPP-ACPF e NaF e que a adição de flúor a CPP-ACP demonstra uma melhoria na remineralização do esmalte em cáries iniciais quando comparado a CPP-ACP e NaF.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos do clareamento com peróxido de hidrogênio a 9,5% com e sem a adição de Cálcio e de agentes remineralizantes no esmalte dental bovino.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho foram :

1) Determinar a microdureza Knoop inicial, intermediária e final do esmalte dental bovino após tratamento clareador em baixas concentrações e remineralização com diferentes agentes;

2) Ilustrar a morfologia superficial por meio de microscopia eletrônica de varredura inicial e final após tratamento clareador em baixas concentrações e remineralização com diferentes agentes.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental deste trabalho encontra-se descrito na figura 1.

Unidade experimental	Blocos de esmalte de incisivo bovinos	
Fatores em estudo	1) Superfície (1 nível)	Esmalte dental bovino
	2) Tratamento Clareador (2 níveis)	a. Clareamento com peróxido de hidrogênio a 9,5% b. Clareamento com peróxido de hidrogênio a 9,5% e adição de Cálcio
	3) Agentes remineralizantes (3 níveis)	a. Desensibilize Nano P b. Clinpro XT Varnish c. Saliva artificial
Variáveis da resposta	1) Microdureza Knoop inicial, intermediária e final 2) Microscopia eletrônica de varredura	

Figura 1 – Delineamento Experimental

4.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Cento e vinte incisivos bovinos, provenientes do mesmo lote de animais (ANEXO 1) para uma padronização quanto ao tratamento dos mesmos e grau de calcificação de seus dentes, foram utilizados nessa pesquisa, após aprovação do

Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade de Taubaté (protocolo 002/2014). Os dentes foram armazenados e desinfetados em solução de timol a 0,1% (Vitapharma Manipulação, Porto Velho, RO, Brasil) por 24 horas a temperatura ambiente.

Após a desinfecção, os debris orgânicos foram removidos com cureta periodontal Macall 13/14 (Hu-Friedy Mfg.Co. Chicago, USA) e lâminas de bisturi (Two Arrows, RPC-Shangai Med SN, Shangai, China) e, posteriormente, submetidos a profilaxia com jatos de bicarbonato de sódio. Foram lavados com água destilada tamponada, pH 7.0 (Vitapharma Manipulação, Porto Velho, RO, Brasil) e armazenados em saliva artificial (F & A Laboratório Farmacêutico LTDA, São Paulo, SP, Brasil) por um período máximo de três meses.

Os espécimes foram analisados com o auxílio de uma lupa de aumento de quatro vezes para verificar a presença de trincas ou fraturas no esmalte. Os dentes que apresentaram alguma alteração foram excluídos da pesquisa.

4.3 OBTENÇÃO DOS BLOCOS

Para a obtenção dos fragmentos dentais bovinos, foram realizados cortes longitudinais e transversais na coroa com a cortadeira de precisão (Isomet 1000 - Buehler Ltda., Illinois, USA), excluindo a porção incisal, cervical e proximais. Para este estudo foi utilizada somente a porção central da coroa bovina (5mm² de dimensão) por se tratar de uma porção mais plana e também por apresentar espessura semelhante de esmalte e dentina.

As superfícies proximais, incisal, cervical, vestibular e lingual dos blocos foram polidas e planificadas em Politriz giratória (APL-4, Arotec, Cotia, Sp, Brasil),

sob refrigeração, com lixas de óxido de alumínio de granulação #600, #1500, #2000 e #4000, respectivamente. A cada troca de lixa de granulação diferente as amostras eram imersas em cuba ultrassônica com água destilada durante 15 minutos. Após o polimento, os espécimes foram armazenados em água destilada, sob refrigeração, até a realização das leituras iniciais. Todos os espécimes foram imersos na solução de saliva artificial (pH=7,0) sete dias antes das leituras iniciais dos ensaios. Os blocos dentais preparados foram divididos aleatoriamente em seis grupos (n=16) experimentais e submetidos a diferentes tratamentos conforme tabela abaixo. Esses procedimentos foram realizados no Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

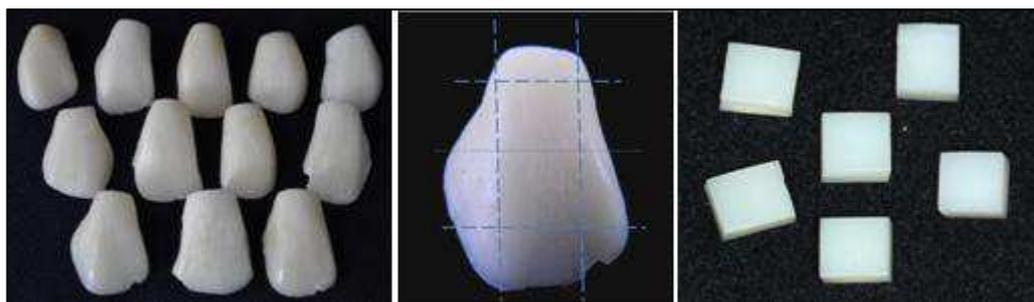


Figura 2 - Obtenção dos blocos de esmalte

4.4 DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

GRUPOS n = 16	PERÓXIDO HIDROGÊNIO 9,5%	PERÓXIDO HIDROGÊNIO 9,5% + CA	DESENSIBILIZE NANO P	CLINPRO XT
G1	Sim	----	----	----
G2	----	Sim	----	----
G3	Sim	----	----	Sim
G4	----	Sim	----	Sim
G5	Sim	----	sim	----
G6	----	Sim	sim	----

4.5 ENSAIO DE MICRODUREZA KNOOP

Todos os espécimes foram submetidos ao ensaio de microdureza superficial Knoop nos tempos inicial, intermediário e final. Os valores da microdureza da superfície foram obtidos através da média aritmética de três leituras na região central do bloco, por meio de um microdurômetro com penetrador tipo Knoop (HMV-2000 Shimadzu, Tokyo, Japão), com carga estática de cinquenta gramas por 15 segundos e com 100 μ m de distância entre elas, para prevenir trincas na superfície do esmalte durante o experimento. Todas as leituras de microdureza foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-Unicamp.

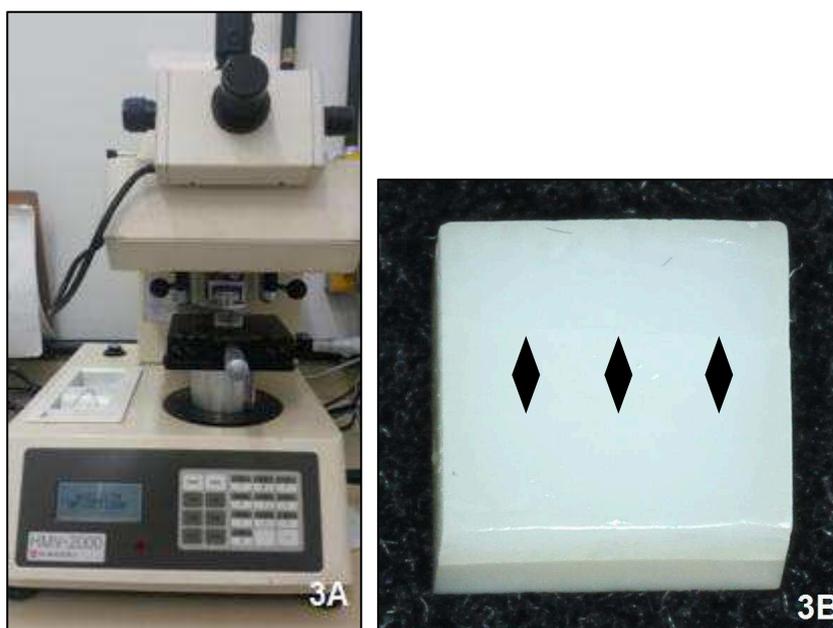


Figura 3:A - Microdurometro com penetrador tipo Knoop (HMV-2000 Shimadzu, Tokyo, Japão);
3B – Esquema representativo das indentações na região central da superfície da amostra com distancia de 100 μ m

4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada em duas amostras mais representativas de cada grupo para ilustrações da morfologia superficial do esmalte antes e após os tratamentos. As amostras permaneceram em uma cuba ultrassônica durante quinze minutos e posteriormente foram imersas em soluções crescentes de álcool etílico (álcool 50%, 70%, 90% e 100%), uma vez durante vinte minutos cada, exceto a solução de 100%, na qual as amostras deveriam ser imersas duas vezes pelo mesmo tempo. Após a desidratação, foi realizada secagem em recipiente com sílica gel durante 24 horas a 37°C e posteriormente as amostras foram cobertas com uma fina camada de ouro (MED 010, Balzer) em metalizador (Denton Vacuum - Desc II, Moorestown, NJ, USA). Após esse procedimento as amostras então foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (JEOL. JSM 5600LV, Tokyo, Japão) com ampliações de 1000X e 4000X.

4.8 CLAREAMENTO

O tratamento clareador foi realizado com o gel Poladay 9,5% (Peróxido de hidrogênio 9,5% - SDI Limited, Australia) por trinta minutos durante 14 dias, conforme recomendações do fabricante. Uma camada de 0.05mL do agente clareador, padronizada por meio de uma seringa de insulina, foi aplicada sobre os espécimes dos grupos G1, G2, G3, G4, G5 e G6, onde permaneceu por trinta minutos em umidade relativa a 37°C em estufa bacteriológica. Em seguida o gel clareador foi removido com água destilada e hastes flexíveis de algodão durante trinta segundos e imersos novamente em saliva artificial.

Nos grupos experimentais G2, G4 e G6 foi adicionado à composição do gel 2.000ppm de sal de Cloreto de Cálcio (CaCl_2), em farmácia de manipulação, com a finalidade de saturar o gel clareador. Quando não estavam em contato com o agente clareador, os espécimes permaneciam armazenados em solução de saliva artificial a 37°C que foi trocada diariamente.



Figura 4: Aplicação do peróxido de hidrogênio a 9,5% (Poladay – SDI Limited, Austrália)



Figura 5: Aplicação do peróxido de hidrogênio a 9,5% (Poladay – SDI Limited, Austrália) com a adição de Cálcio

4.9 AGENTES REMINERALIZANTES

A remineralização da superfície de esmalte foi realizada de acordo com o grupo experimental: nos grupos G3 e G4, foi utilizado o agente remineralizante Clinpro XT Varnish (3M ESPE, St. Paul, EUA). Uma camada uniforme de 0,5mm foi aplicada diretamente sobre o esmalte e posteriormente fotoativada por vinte segundos, de acordo com as recomendações do fabricante para remineralização.

A película que se formou após a aplicação do produto nos grupos G3 e G4 foi removida antes da realização do ensaio de microdureza.

Nos grupos G5 e G6, foi utilizado o agente remineralizante Desensibilize Nano P (FGM Produtos Odontológicos Ltda.; Joinville, SC, Brasil). Seguindo as instruções do fabricante, o agente foi friccionado com disco de feltro em baixa rotação durante dez segundos e permaneceu em contato com a superfície do esmalte por cinco minutos. O excesso do produto deve ser removido com algodão. Após a aplicação dos agentes remineralizantes os espécimes foram armazenados em saliva artificial novamente.



Figura 6: Aplicação do agente remineralizante Desensibilize Nano P (FGM Produtos Odontológicos Ltda.; Joinville, SC, Brasil)

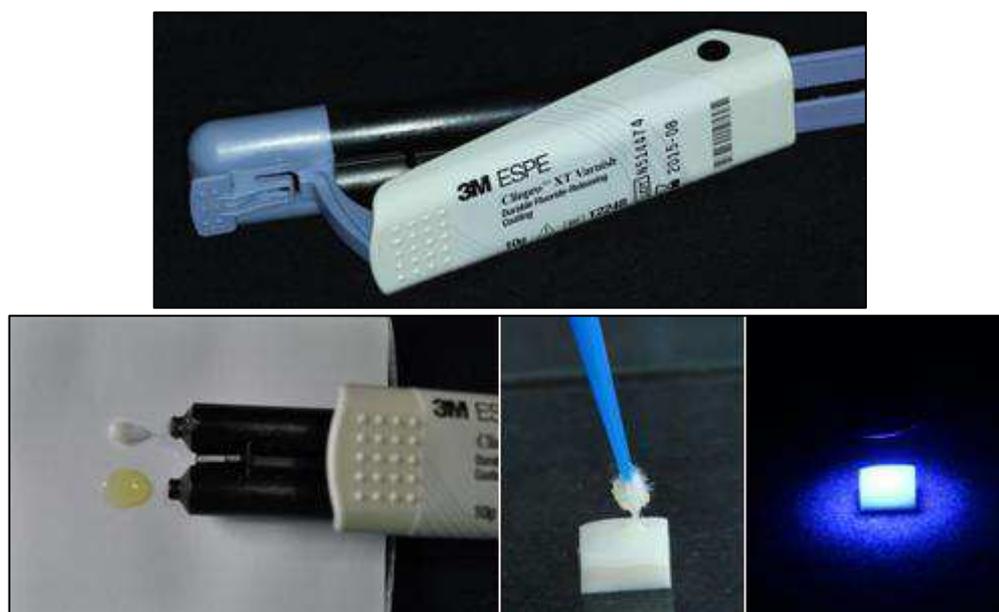


Figura 7: Aplicação do agente remineralizante Clinpro XT (3M ESPE, St. Paul, EUA)

5 RESULTADOS

Os dados foram tabulados e foi realizada a média aritmética das três leituras de todos os grupos estudados. Foi realizado o Teste de Shapiro-Wilk para se verificar a normalidade das amostras. Em seguida foi realizada Análise de Variância com Medidas Repetidas ($\alpha=0,05$) e Teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os resultados estão descritos na tabela abaixo.

5.1 MICRODUREZA KNOOP

Os resultados da análise da microdureza Knoop ($n =16$) do esmalte estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Média (desvio padrão) da microdureza Knoop do esmalte bovino

Tratamentos	Tempo Inicial (controle)	Tempo Intermediário (após clareamento)	Tempo Final (após remineralização)
1	336,75 (13,85) Aa	288,94 (24,25) Ac	323,25 (10,75) Bb
2	339,21 (12,46) Aa	303,17 (19,72) Ab*	330,69 (13,18) Aba
3	344,75 (13,71) Aa	290,46 (11,25) Ab	354,46 (11,92) Aa
4	336,54 (11,25) Ab	302,63 (9,26) Ac *	351,56 (10,79) Aa
5	342,27 (10,35) Aa	284,75 (13,88) Ab	343,75 (16,62) Aa
6	344,13 (10,65) Ab	301,23 (13,57) Ac *	353,81 (11,55) Aa

Médias (desvio padrão) seguidas de letras maiúsculas diferentes apresentam diferenças significantes ($p<0,001$) para comparações dos tratamentos remineralizadores. Médias (desvio padrão) seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significantes ($p<0,001$) para comparações do tempo. Médias (desvio padrão) seguida de * indicam que houve diferença significativa ($p<0,001$) entre os agentes clareadores

Os resultados mostram que na comparação entre os tempos (inicial, intermediário e final) houve diferença estatística significativa entre as leituras iniciais e intermediárias para todos dos grupos estudados, e diminuição nos valores de microdureza. Quando comparamos as leituras intermediárias e finais observa-se aumento da microdureza para todos os grupos independente do tipo de remineralização.

Na comparação entre os grupos nos tempos inicial e intermediário não houve diferença estatística significativa entre os mesmos. Porém quando comparamos todos os grupos no tempo final houve diferença estatística significativa apenas no grupo G1, que apresentou os menores valores de microdureza.

Na comparação ente os géis clareadores com e sem a adição de Cálcio, os resultados mostraram haver diferenças estatísticas significativas sendo que os géis clareadores com adição de Cálcio apresentaram os maiores valores de microdureza.

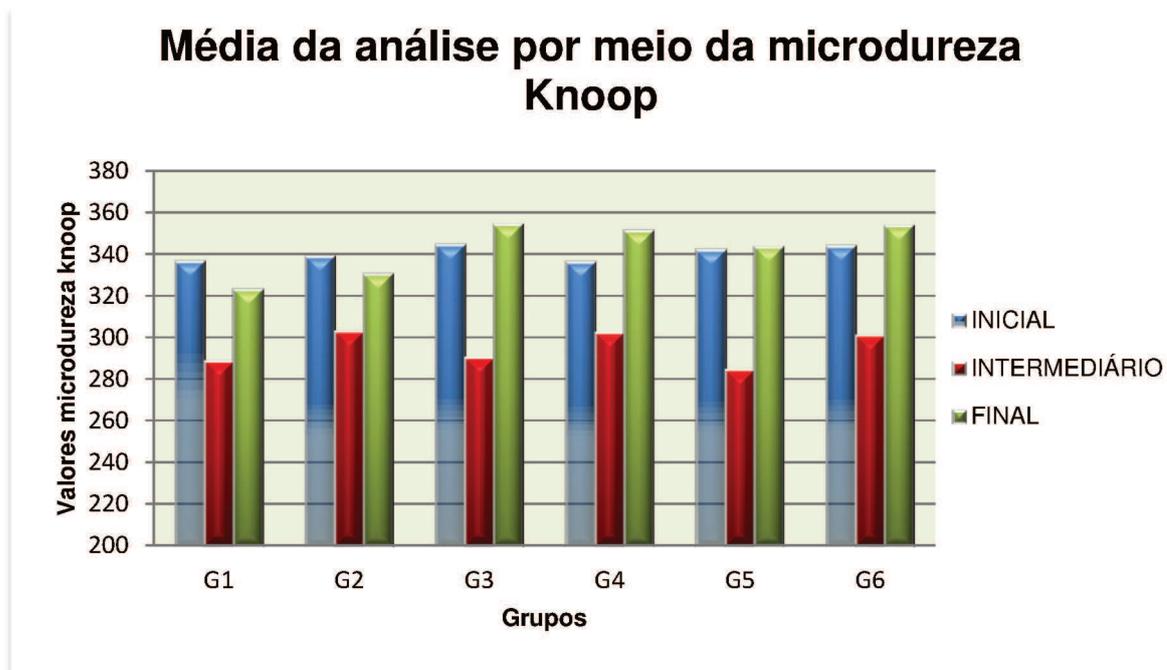


Figura 8 – Média dos grupos (1 ao 6) da análise realizada por meio da microdureza Knoop

5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

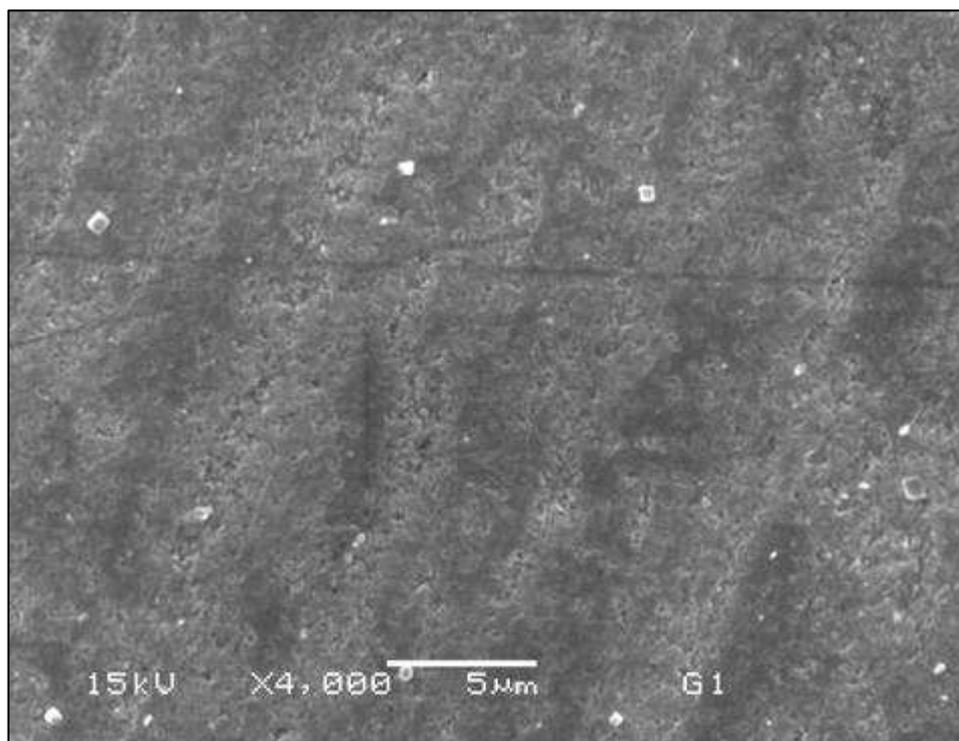
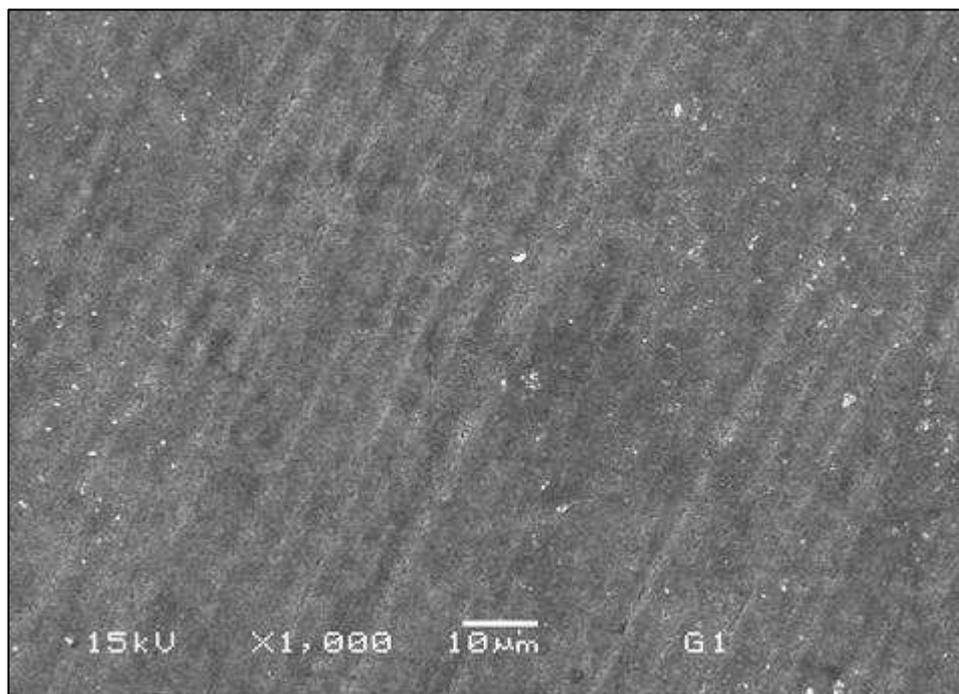


Figura 9 - MEV da superfície do esmalte bovino grupo G1 (clareado com PH 9,5%), ampliações de 1000X e 4000X respectivamente

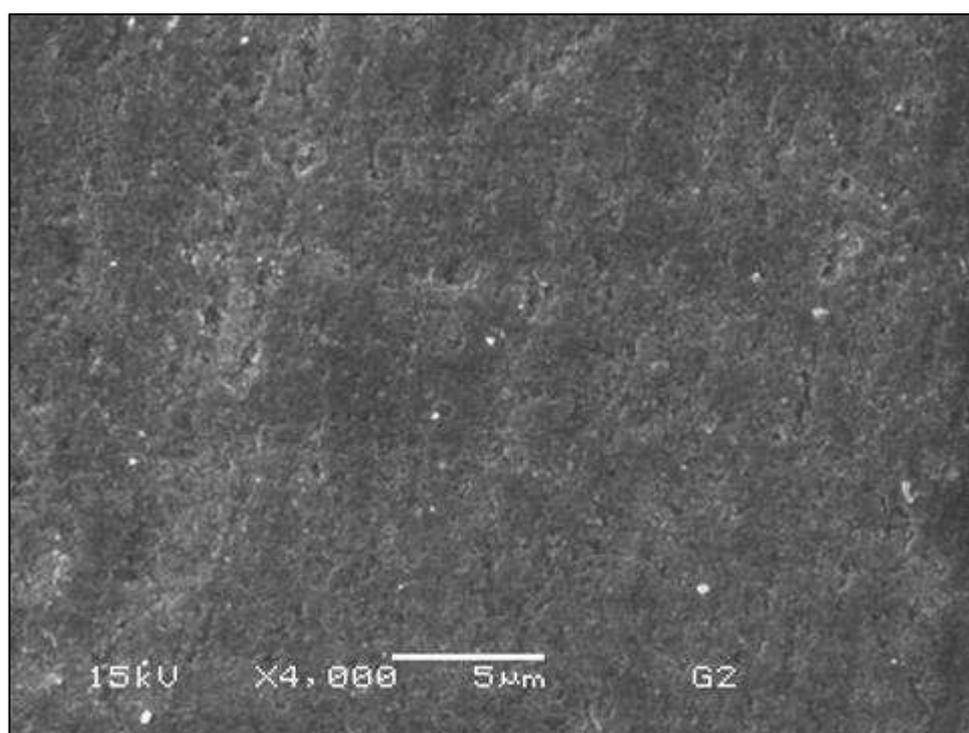
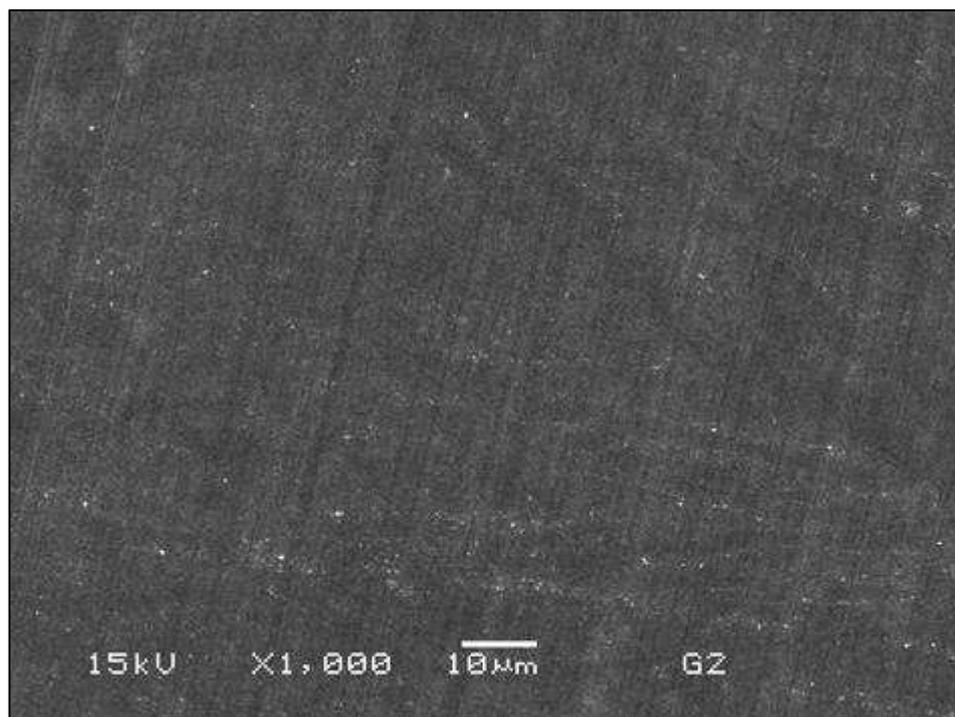


Figura 10 - MEV da superfície do esmalte bovino do grupo G2 (clareado com PH 9,5% + Cálcio), ampliações de 1000X e 4000X respectivamente

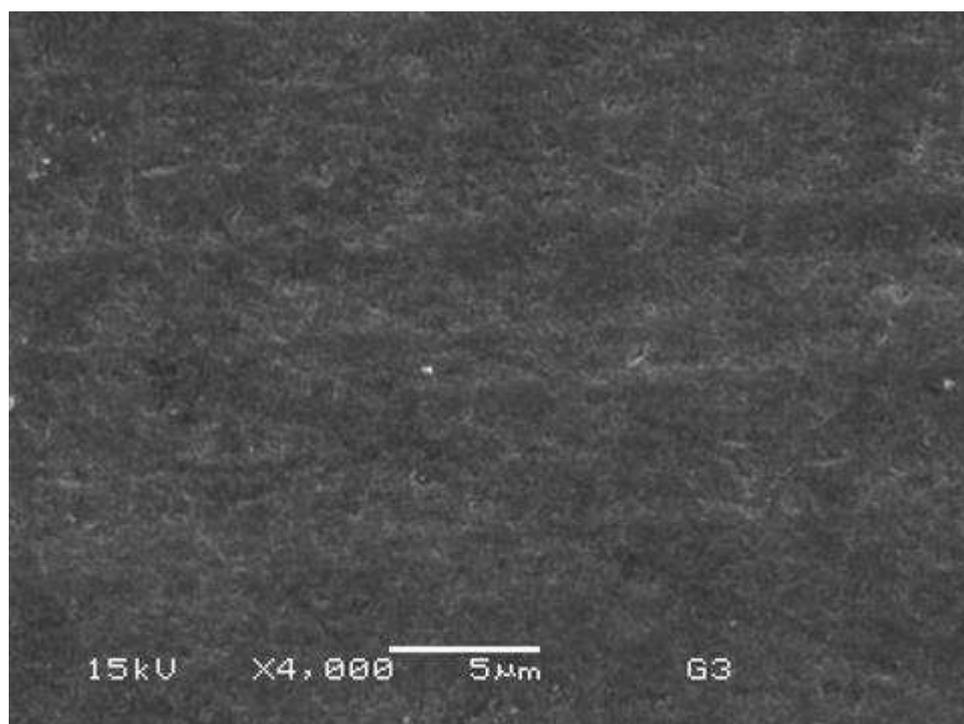
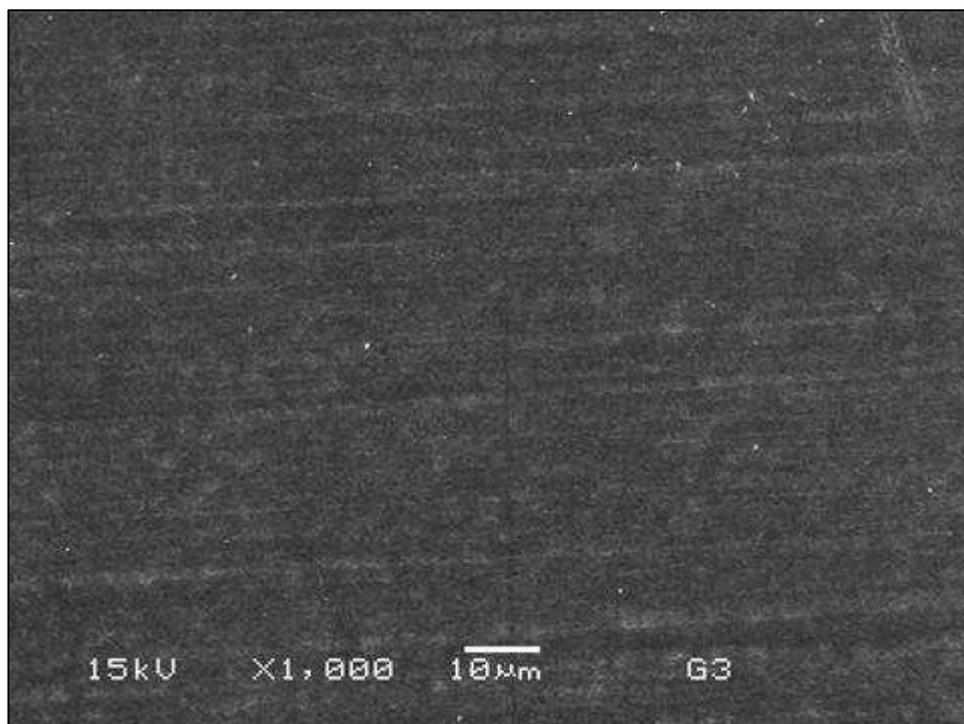


Figura 11 – MEV da superfície do esmalte bovino do grupo G3 (clareado com PH 9,5% e remineralizado com ClinPro XT), ampliações de 1000X e 4000X respectivamente

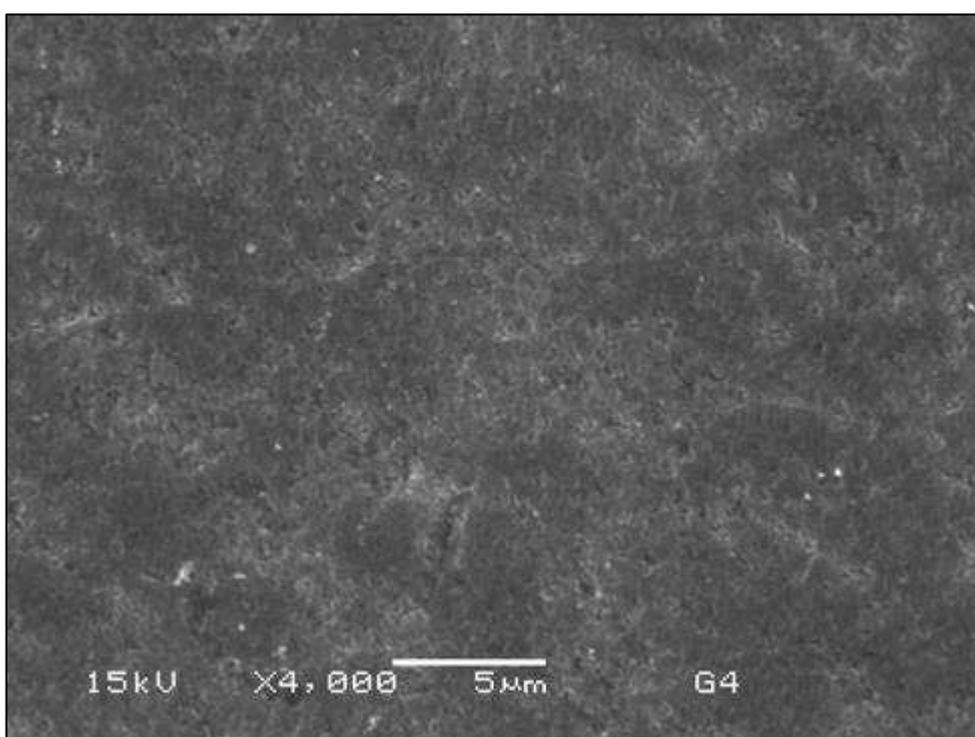
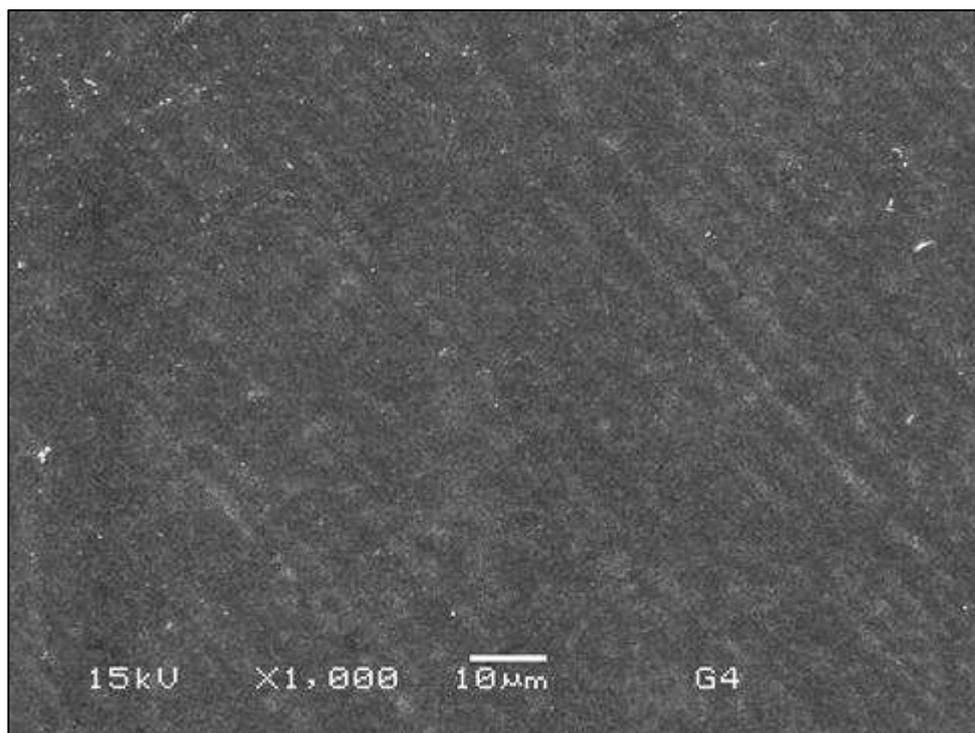


Figura 12- MEV da superfície do esmalte bovino do grupo G4 (clareado com PH 9,5% + Cálcio e remineralizado com ClinPro XT), ampliações de 1000X e 4000X respectivamente

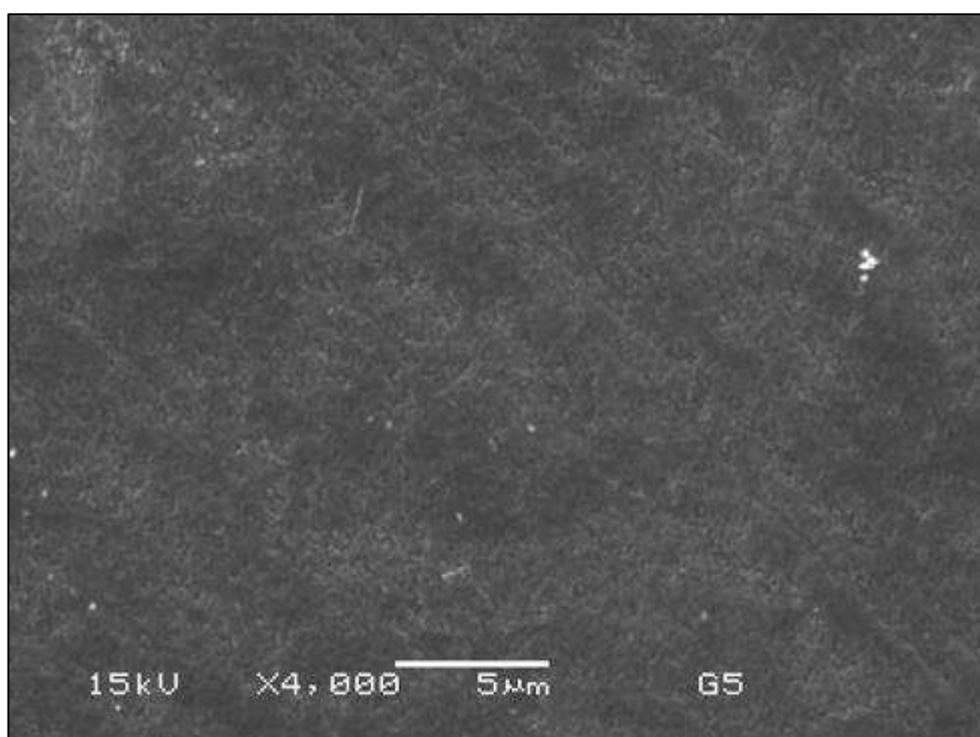
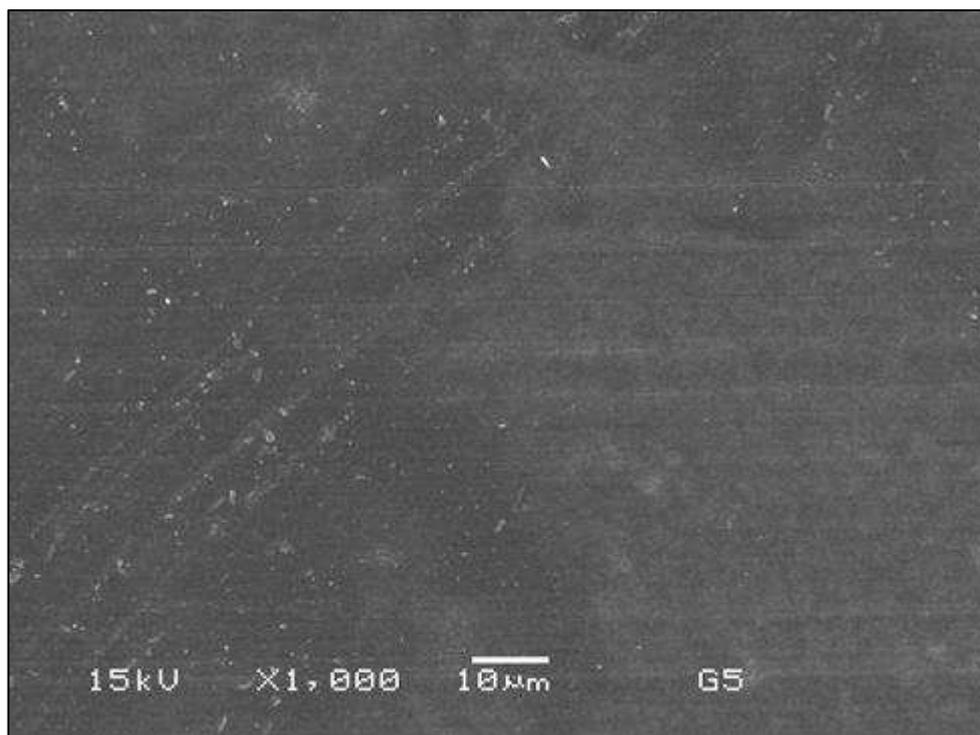


Figura 13 - MEV da superfície do esmalte bovino do grupo G5 (clareado com PH 9,5% e remineralizado com Desensibilize Nano P), ampliações de 1000x e 4000X respectivamente

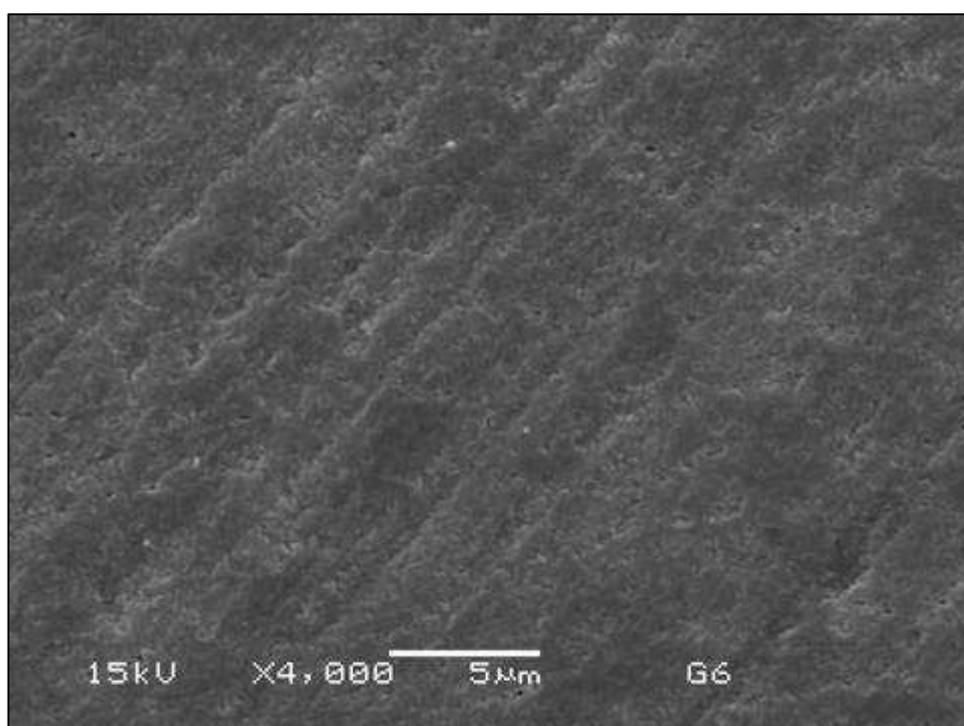
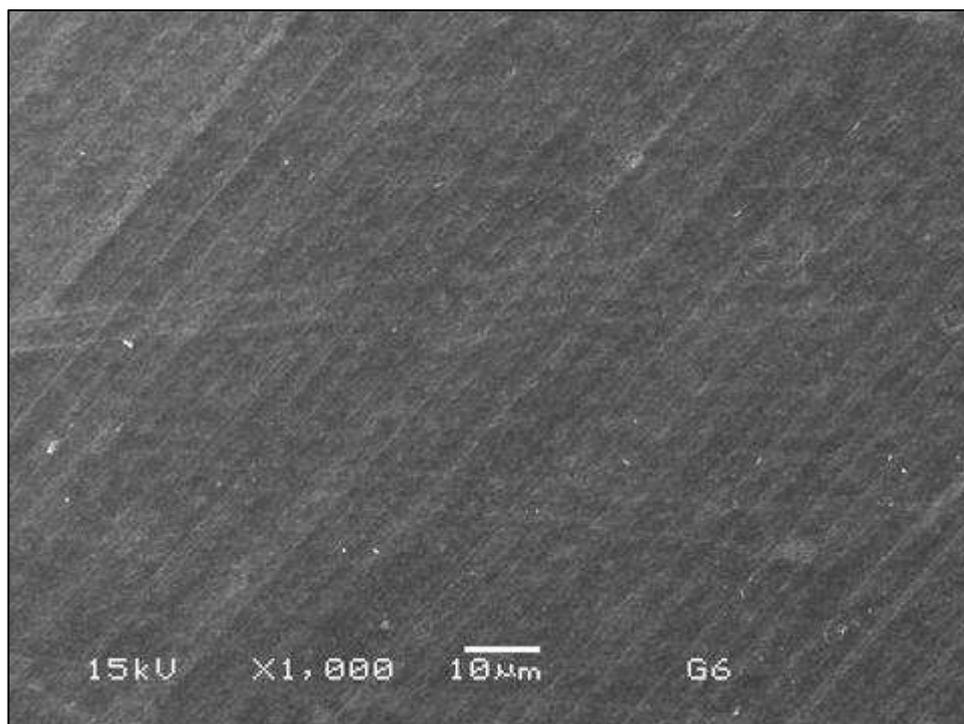


Figura 14-MEV da superfície do esmalte bovino do grupo G6 (clareado com PH 9,5% + Cálcio e remineralizado com Desensibilize Nano P)

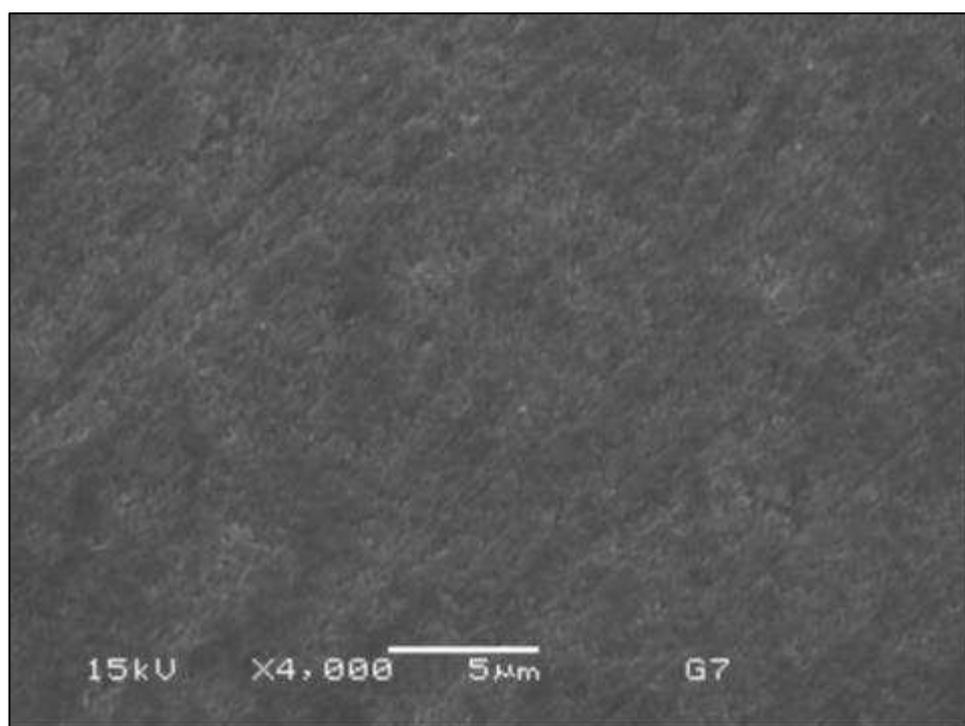
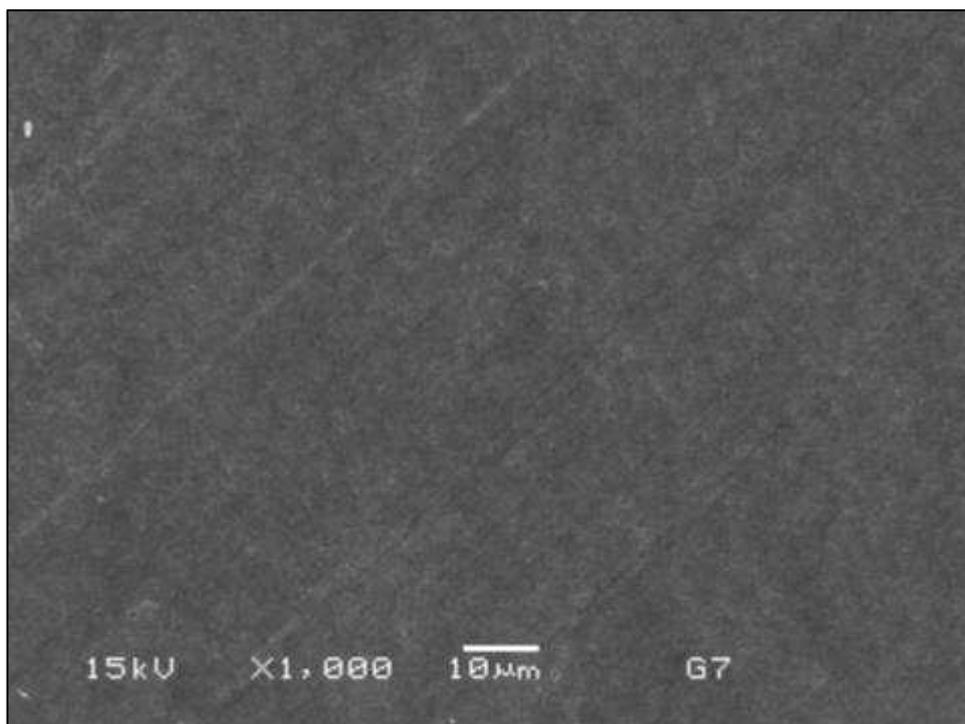


Figura 15 – MEV da superfície do esmalte bovino antes do tratamento clareador e da remineralização

6 DISCUSSÃO

Em vários estudos, a utilização de géis clareadores sugerem efeitos adversos nas estruturas dentais como a diminuição da resistência ao desgaste, aumento da rugosidade superficial, diminuição dos valores de microdureza e alterações morfológicas nas estruturas mineralizadas dos dentes (Pinto et al., 2004; Lewinstein et al., 2004 Basting et al., 2007), embora estes resultados ainda sejam conflitantes.

A redução nos valores de microdureza do esmalte indica que a aplicação dos agentes clareadores pode promover perda no conteúdo mineral. Estudos demonstram haver redução na quantidade de cálcio e também na relação Cálcio-Fosfato, que são os principais componentes inorgânicos dos tecidos dentais (McCracken & Haywood, 1996; Al-Salehi et al., 2007; Tezel et al., 2007).

Nesse contexto, na tentativa de minimizar alterações adversas estudos têm sugerido a realização de tratamentos remineralizantes pós-clareamento e também a adição de cálcio na formulação dos géis clareadores, a fim de saturar o gel com íons, minimizando a perda de minerais e aumentando a resistência do esmalte à desmineralização causada pela ação da aplicação dos peróxidos (De Oliveira et al., 2005; Giannini et al., 2006; Manton et al., 2008).

No presente estudo, constatou-se que ambos os agentes clareadores testados provocaram redução da microdureza do esmalte dental bovino após o clareamento (tempo intermediário). No entanto, esta redução foi estatisticamente menor nos grupos que receberam o agente clareador com Cálcio quando comparado aos grupos que foram clareados com gel sem a adição de Cálcio. Estudos anteriores já haviam obtido resultados semelhantes com o uso do peróxido de hidrogênio em altas e baixas concentrações (Borges et al., 2009; Borges et al.,

2010; De Abreu et al., 2011; Borges et al., 2012). Porém, outros estudos realizados com peróxido de hidrogênio a 7,5% demonstraram não haver nenhum tipo de efeito na microdureza do esmalte, de acordo com a metodologia aplicada (Maia et al., 2008; Sasaki et al., 2009).

Estudos sugerem que a desmineralização da superfície do esmalte após o clareamento pode ser controlada por meio da saliva e também por meio da aplicação de agentes remineralizantes, como os fluoretos e pastas contendo CPP-ACP e fosfato de Cálcio na forma de hidroxiapatita (Pinto et al., 2004; Heshmat et al., 2014).

Neste estudo, foram utilizados dois agentes remineralizantes após clareamento, além do armazenamento das amostras em saliva artificial. O ClinPro XT Varnish é um selante ionomérico sítio-específico usado como cobertura protetora para superfícies de esmalte e dentina. Possui como vantagem liberação de flúor, íons cálcio e fosfato além de ser altamente durável, podendo permanecer no dente por seis meses ou mais. (3M ESPE). O Desensibilize Nano P é uma pasta composta por nanopartículas de hidroxiapatita, que atuam na obliteração dos túbulos dentinários e na remineralização da estrutura dental (FGM).

Os resultados obtidos demonstraram que houve aumento nos valores da microdureza final independente dos produtos utilizados, demonstrando assim a efetividade dos agentes remineralizantes testados neste estudo.

Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos que também avaliaram o uso de agentes remineralizantes após o clareamento (Martin et al., 2010; Cunha et al., 2012; Heshmat et al., 2014). De acordo com a metodologia utilizada, os autores observaram aumento nos valores de microdureza e diminuição da rugosidade de superfície quando comparados aos valores iniciais.

Outros estudos avaliaram o efeito protetor de agentes remineralizantes, como a pasta de CPP-ACP e a pasta de nano hidroxiapatita, em lesões iniciais de cárie e na erosão do esmalte utilizando diferentes metodologias. Os resultados estão de acordo com os encontrados nesse estudo, e demonstraram que os agentes foram efetivos na remineralização das lesões iniciais de cárie e também na erosão do esmalte. (Tschoppe et al., 2011; Carvalho et al., 2013; Shetty et al., 2014; Carvalho et al., 2014).

Os agentes clareadores em baixas concentrações são eficientes no tratamento clareador e promovem poucas alterações estruturais no esmalte. Essas alterações não possuem efeitos deletérios significativos no esmalte, sendo que esses efeitos podem ser minimizados ou revertidos com o uso de agentes contendo flúor e cálcio em sua composição e também fazendo uso de substâncias capazes de promover a remineralização das estruturas minerais do dente.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada neste estudo podemos concluir que:

1. Todos os agentes clareadores estudados promoveram diminuição da microdureza Knoop do esmalte logo após o clareamento;
2. Os agentes clareadores com Cálcio promoveram as menores alterações de microdureza Knoop;
3. A remineralização foi efetiva e promoveu um aumento da microdureza Knoop final independente do agente remineralizador utilizado.

REFERÊNCIAS¹

1. Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, Ambrosano GM. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surfasse. *Journal of Oral Rehabilitation* 2004;31:155-9.
2. Alves EA, Alves FK, Campos E, Mathias P. Susceptibility to caries like lesion after dental bleaching with different techniques. *Quintessence International* 2007;38:400-9.
3. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. Micromorphology and surface roughness of sound and demineralized enamel and dentin bleaching with a 10% carbamide peroxide bleaching agent. *American Journal of Dentistry* 2007;20:97-102.
4. Haywood VB, Heymann HO. Nighthguard vital bleaching. *Quintenssence Internacional* 1989;20:173-6.
5. Mokhlis GR, Matis BA, Cochran MA, Eckert GJ. A clinical evaluation of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening agents during daytime use. *J Am Dent Assoc* 2000;131:1269-77.
6. Kwon YH, Huo MS, Kim KH et al. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. *J Oral Rehabil* 2002;29:473-7.
7. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: Review of adverse effects and safety issues. *British Dental Journal* 2006;200:371-6.
8. Faraoni-Romano JJ, Silveira AG, Turssi CP, Serra MC. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: Effect on dental microhardness and roughness. *J Esthet Restor Dent* 2008;20:395-404.
9. Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Gianinni M. Peroxide bleaching agent effect on enamel surfasse microhardness of human enamel. *Brazilian Dental Journal* 2004;18:306-11.
10. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *Journal of Prosthetic Dentistry* 2004;92:337-42.
11. McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *Journal of Dentistry* 1996;24:395-8.
12. Manton DJ, Bhide R, Hopcraft MS, Reynolds EC. Effect of ozone and tooth mousse on the efficacy of peroxide bleaching. *Aust Dent J* 2008;53:128-32.

¹ Referências elaboradas de acordo com modelo Vancouver

13. 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;16:103-6.
14. Borges AB, Yui KCK, D'Avila TC, Takahashi CL, Torres CRG, Borges ALS. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Operative Dentistry* 2010;35:180-6.
15. Bistey T, Nagy IP, Simó A, Hegedus C. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. *Journal of Dentistry* 2007;35:325-30.
16. Sasaki RT, Arcanjo AJ, Flório FM, Basting RT. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide. *J Appl Oral Sci* 2009;17:611-6.
17. Ushigome T, Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Influence of peroxide treatment on bovine enamel surface – Cross-sectional analysis. *Dental Materials Journal* 2009;28:315-23.
18. Borges AB, Samezima LY, Fonseca LP, Yui KCK, Borges ALS, Torres CRG. Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Operative Dentistry* 2009;34:593-7.
19. Mondelli RFL, De Azevedo JFDG, Francisconi PAS, Ishikiriama SK, Modelli J. Wear and surface roughness of bovine enamel submitted to bleaching. *The European Journal of Esthetic Dentistry* 2009;4:396-403.
20. Martin JMH, Almeida JB, Rosa EAR, Torno V, Mazur RF. Effect of fluoride therapies on the surface roughness of human enamel exposed to bleaching agents. *Quintessence Internacional* 2010;41:71-8.
21. De Abreu DR, Sasaki RT, Amaral FLB, Flório FM, Basting RT. Effect of home-use and in-office bleaching agents containing hydrogen peroxide associated with amorphous calcium phosphate on enamel microhardness and surface roughness. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2011;23:158-68.
22. Ferreira SS, Araújo JLN, Morhy ON, Tapety CMC, Youssef MN, Sobral MAP. The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microscopy Research and Technique* 2011;74:512-6.
23. Tschoppe P, Zandim DL, Martus Peter, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal Of Dentistry* 2011;39:430-7.
24. Dominguez JA, Bittencourt B, Michel M, Sabino N, Gomes JC, Gomes OMM. Ultrastructural evaluation of enamel after dental bleaching associated with fluoride. *Microscopy Research and Technique* 2012;75:1093-8.

25. De Arruda AM, Dos Santos PH, Sundfeld RH, Berger SB, Briso ALF. Effect of Hydrogen peroxide at 35% on the morphology of enamel and interference in the de-mineralization process: An *In situ* study. *Operative Dentistry* 2012;37:518-25.
26. Borges AB, Torres CRG, De Souza PAB, Caneppele TMF, Santos LFTF, Magalhães AC. Bleaching gels containing calcium and fluoride: Effect on enamel erosion susceptibility. *International Journal of Dentistry* 2012;2012.
27. Cunha AGG, Vasconcelos AAM, Borges BCD, Vitoriano JO, Junior CA, Machado CT, Santos AJS. Efficacy of in-office bleaching techniques combined with the application of a casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste at different moments and its influence on enamel surface properties. *Microscopy research and technique* 2012;75:1019–25.
28. Soares DG, Ribeiro APD, Sacono NT, Loguércio AD, Hebling J, Costa CAS. Mineral Loss and Morphological Changes in Dental Enamel Induced by a 16% Carbamide Peroxide Bleaching Gel. *Brazilian Dental Journal* 2013;24:517-21.
29. Carvalho FG, Brasil VLM, Filho TJS, Santos RL, Lima BASG. Protective effect of calcium nanophosphate and CPP-ACP agents on enamel erosion. *Brazilian Oral Research* 2013;27:463-70.
30. Heshmat H, Ganjkar MH, Jaber S, Fard MJK. The effect of Remin Pro and MI Paste Plus on Bleached Enamel Surface Roughness. *Journal of Dentistry* 2014;11:131-6.
31. Carvalho FG, Vieira BR, Santos RL, Carlo HL, Lopes PQ, Lima BASG. In vitro Effects of Nano-hydroxyapatite Paste on Initial Enamel Carious Lesions. *Pediatric Dentistry* 2014;36:85-9.
32. Shetty S, Hegde MN, Bopanna TP. Enamel remineralization assessment after treatment with three different remineralizing agents using surface microhardness: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry* 2014;17:49-52.
33. Al-Salehi SK, Wood DJ, Hatton PV. The effect of 24 hour non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *Journal of Dentistry* 2007;35:845-50.
34. Tezel H, Ertas OS, Ozata F, Dalgac H, Korkut ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss of the enamel surface. *Quintessence Int* 2007;38:339-47.
35. Gianinni M, Cavalli V, Paes Leme AF. Effect of carbamide peroxide-based bleaching agents containing fluoride or calcium on tensile strength of human enamel. *Journal of Applied Oral Science* 2006;11:82-7.
36. Maia E, Baratieri LN, De Andrada MAC, Monteiro SJ, Vieira LC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an in situ study. *Journal of Dentistry* 2008;36:2–7.

ANEXO**Anexo A – Declaração de doação dos dentes bovinos****DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que os dentes bovinos obtidos neste Frigorífico JBS S.A, unidade Porto Velho, - CNPJ 02.916.265/0041 – 57, inscrito no Serviço de Inspeção Federal sob nº 4149, supervisão do Responsável Técnico Médico Veterinário Rafael Andrade Motta inscrito no CRMV-RO 0783, foram doados e serão utilizados para finalidade de pesquisa, que será realizada na Universidade de Taubaté, sob responsabilidade do professor Marcos Augusto do Rego.

Porto Velho 16 de Março de 2013

Rafael Andrade Motta
Médico Veterinário
CRMV-RO 0783

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Geruza Corrêa Do Amaral Ribeiro

Taubaté, 09 de Dezembro 2014.