ANDRÉA TAMI ABE

Efeito dos agentes clareadores sobre o esmalte dental, a resina composta e a interface dente/restauração

São Paulo

2014

ANDRÉA TAMI ABE

Efeito dos agentes clareadores sobre o esmalte dental, a resina composta e a interface dente/restauração

Versão Original

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino

São Paulo

2014

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

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

Abe, Andréa Tami.

Efeito dos agentes clareadores sobre o esmalte dental, a resina composta e a interface dente/restauração / Andréa Tami Abe ; orientador Miriam Lacalle Turbino. -- São Paulo, 2014.

86p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

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

Versão original

1. Dureza. 2. Clareadores dentários. 3. Esmalte dentário. 4. Resinas compostas. 5. Peróxido de hidrogênio. 6. Microscopia eletrônica de varredura. I. Turbino, Miriam Lacalle. II. Título.

Abe AT. Efeito dos agentes clareadores sobre o esmalte dental, a resina composta e a interface dente/restauração. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /2014

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____Julgamento: _____

*Dedico este trabalho aos meus pais, **Nilce e Adalberto**, por todo o apoio e carinho. Não tem como agradecer todo esforço e sacrifício que vocês sempre fizeram por mim. Ver seus olhares cheios de orgulho, é a melhor recompensa que eu posso ter. Tudo que eu conquistei até hoje foi por mérito de vocês. Obrigada, amo vocês.*

*Ao meu namorado, **Júlio César**, que é a pessoa que mais me incentiva e acredita no meu potencial e no meu sucesso (até mais que eu mesma!). Obrigada pelo apoio e por sempre estar ao meu lado nos momentos mais importantes da minha vida. A sua companhia foi essencial para que eu conseguisse concretizar esse sonho. Te amo.*

À todos familiares e amigos que me acompanharam nessa jornada e torcem pelo meu sucesso.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*À minha querida orientadora, **Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino**, por todo incentivo e apoio desde a época de iniciação científica até agora. Agradeço por acreditar e depositar sua confiança em mim, pela disposição em sempre me ajudar, pela amizade, pelos ensinamentos, pela dedicação e pela paciência. Te considero como um exemplo de profissional. Obrigada por tudo.*

"Se vi mais longe foi por estar de pé sobre ombros de gigantes."

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Waldyr Antonio Jorge.

À Comissão de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

À CAPES, pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Dentística pelos ensinamentos e por terem um papel essencial na minha formação, tanto na graduação, quanto na pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Michel Nicolau Youssef, por toda ajuda e suporte com este trabalho.

A todos os meus colegas de pós-graduação pela amizade, pelo companheirismo e por todos os momentos de descontração que passamos nesses dois anos de convívio. Todos, de alguma forma, me ajudaram durante a realização deste trabalho.

Às amigas que fiz durante esse mestrado, Samira e Taís. Companheiras desde o início, criamos uma amizade sincera, sem inveja e sem egoísmos. Obrigada por sempre me ajudarem em tudo o que precisei, pelas conversas de desabafo, pelo incentivo constante e pelos momentos de diversão! Com certeza essa jornada não seria a mesma sem vocês comigo! Tenho muito orgulho de vocês e torço para que realizem todos os seus sonhos. Sucesso meninas!

Aos queridos colegas, Carlos, Paula, Tamile, Giovanna, Rosiane e Kátia, pelo convívio, pela ajuda e pelas risadas. Em especial à Paula e Rosiane pela ajuda com o equipamento de mensuração da dureza.

Aos colegas Fernando Seishim Hanashiro e Milena Traversa Palazon, pelo apoio e incentivo desde o início desse mestrado.

À Alessandra Pereira de Andrade e à Ângela Mayumi Shimaoka, por toda ajuda e incentivo desde a época de graduação.

Aos funcionários do Departamento de Dentística, David, Selma, Leandro, Aldo, Arnaldo e Débora, por toda ajuda durante o mestrado. Agradeço especialmente à Soninha por estar sempre com um sorriso no rosto e disposta a me ajudar no laboratório.

À Sheila, do Laboratório de Caracterização Tecnológica, pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura.

Aos funcionários da biblioteca da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, especialmente à Glauci e à Vânia pela ajuda com a formatação e revisão deste trabalho.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

*“Enquanto eu tiver perguntas e não houver respostas
continuarei a escrever.”*

Clarice Lispector

RESUMO

Abe AT. Efeito dos agentes clareadores sobre o esmalte dental, a resina composta e a interface dente/restauração [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Original.

Este estudo *in vitro* teve como objetivo avaliar a dureza do esmalte dental, da resina composta, do adesivo e da camada híbrida em esmalte expostos a agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35%, e analisar a interface dente/restauração com microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram utilizadas 40 coroas dentais de incisivos bovinos, que foram incluídas em resina epóxi. Uma cavidade de 2x2x2mm foi confeccionada no terço médio da face vestibular planificada de cada dente. As cavidades foram restauradas com o adesivo Adper Single Bond 2 e a resina nanoparticulada Filtek Z350 XT, e o polimento foi realizado após uma semana da confecção das restaurações. Os corpos de prova foram divididos em quatro grupos (n=10), correspondente a cada agente clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35% utilizado (TB: Total Blanc Office; HPB: Whiteness HP Blue; HP: Whiteness HP; PO: Pola Office). A aplicação dos clareadores foi realizada 24 horas após o polimento, de acordo com as recomendações dos respectivos fabricantes. O valor do pH dos agentes clareadores foi medido no início e no final do procedimento clareador. A dureza dos substratos foi mensurada antes (inicial), imediatamente após o clareamento e após 7 dias de armazenamento em saliva artificial com o equipamento ultramicrodurômetro DUH-211S (Shimadzu). As cargas utilizadas foram de 100mN para o esmalte dental e para a resina composta, e de 10mN para o adesivo e para a camada híbrida em esmalte. Para a análise com MEV, foi confeccionado mais um corpo de prova para cada agente clareador, que foi replicado em resina epóxi a cada tempo de análise. Os testes estatísticos empregados foram a ANOVA de 2 fatores sendo 1 com vinculação ($p < 0,05$) e o teste de Tukey. Quanto à dureza do esmalte e da camada híbrida, os corpos de prova expostos aos agentes TB, HPB e HP não apresentaram alteração da dureza nos três tempos de mensuração. O agente PO foi o clareador que apresentou o valor de pH mais baixo e o único que promoveu uma diminuição da dureza desses substratos imediatamente após sua aplicação, porém após 7 dias de armazenamento em saliva

artificial a dureza retornou ao valor inicial. Nenhuma alteração foi observada quanto à dureza da resina composta e do adesivo expostos aos agentes clareadores utilizados. A análise em MEV revelou fendas entre o esmalte dental e o adesivo imediatamente após exposição à maioria dos clareadores. Pode-se concluir que o agente PO foi o único que diminuiu a dureza dos substratos dentais e o que promoveu a maior fenda na interface dente/restauração logo após sua aplicação. Nenhum clareador promoveu alteração da dureza da resina composta e do adesivo.

Palavras-chave: Dureza. Clareadores Dentários. Peróxido de hidrogênio. Esmalte Dentário. Resinas Compostas. Microscopia eletrônica de varredura.

ABSTRACT

Abe AT. Effect of bleaching agents on the dental enamel, the composite resin and the tooth/restoration interface [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Original.

The aim of this in vitro study was to evaluate the hardness of the dental enamel, the composite resin, the dental adhesive and the enamel hybrid layer exposed to 35% hydrogen peroxide bleaching agents, and to analyze the tooth/restoration interface with scanning electron microscopy (SEM). Forty bovine incisor crowns were embedded in epoxy resin and then the labial surface of the teeth was flattened. One 2x2x2mm cavity was prepared on the middle third of each tooth labial surface. The cavities were restored with the adhesive Adper Single Bond 2 and the nanocomposite resin Filtek Z350 XT. After one week of storage, the restorations were polished. The specimens were divided into four groups (n=10), in correspondence to each 35% hydrogen peroxide bleaching agents used (TB: Total Blanc Office; HPB: Whiteness HP Blue; HP: Whiteness HP; PO: Pola Office). The bleaching procedure was performed 24 hours after polish, according to each manufacturer's recommendation. The pH value of the bleaching agents was measured before and at the end of the bleaching procedure. Hardness test was performed before, immediately after bleaching and after storage in artificial saliva for 7 days, with the ultramicrohardness tester DUH-211S (Shimadzu). Indentations were performed using 100mN load for dental enamel and composite resin, and 10mN load for adhesive layer and enamel hybrid layer. For SEM analysis, one more specimen was made for each bleaching agent, which was replicated in epoxy resin at each measurement time. The statistical tests used were 2-way ANOVA and Tukey test ($p < 0,05$). Regarding to dental enamel and enamel hybrid layer hardness, the specimens exposed to TB, HPB and HP agents did not present hardness alterations at any measurement time. The PO agent presented the lowest pH value and was the only that promoted hardness decrease on these dental surfaces immediately after application, however, after storage in artificial saliva for 7 days the hardness returned to initial value. No alteration was observed regarding to hardness of composite resin and adhesive exposed to bleaching agents. The SEM analysis revealed gaps

between the dental enamel and the adhesive immediately after exposure to majority bleaching agents. In conclusion, the PO agent was the only that promoted hardness decrease on dental surfaces, and the major gap formation in tooth/restoration interface after application. No bleaching agents caused any alteration on composite resin and adhesive hardness.

Keywords: Hardness. Tooth bleaching agents. Hydrogen peroxide. Dental enamel. Composite resins. Scanning electron microscopy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MEV	microscopia eletrônica de varredura
mm	milímetro(s)
pH	potencial hidrogênionico
mN	mili-Newton
ANOVA	análise de variância
nm	nanômetro(s)
µm	micrômetro(s)
Bis-GMA	bisfenol-A glicidil metacrilato
UDMA	uretano dimetacrilato
TEGDMA	trietilenoglicol dimetacrilato
Bis-EMA	bisfenol-A polietileno dieter
n°	número
HEMA	2 hidroxietil metacrilato
mW/cm ²	miliwatt(s) por centímetro quadrado
Kg	quilogramas
ml	mililitro(s)
PVC	policloreto de vinil
m=	média

LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
=	igual
<	menor que
≈	aproximadamente
™	trade mark
°C	graus Celsius
±	mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
3 PROPOSIÇÃO	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
5 RESULTADOS.....	45
6 DISCUSSÃO	69
7 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS.....	77
ANEXO.....	86

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a melhora na aparência estética do sorriso proporcionou um aumento na busca pelos pacientes por tratamentos odontológicos estéticos. Entre eles o clareamento dental adquiriu popularidade e maior aceitação por promover resultados satisfatórios para o paciente e ser menos invasivo que tratamentos restauradores diretos ou indiretos.

O peróxido de hidrogênio é o principal agente utilizado no clareamento dental e pode ser aplicado diretamente sobre a estrutura dental ou ser produzido localmente através de reações químicas por precursores como o peróxido de carbamida (Price et al., 2000). Para o clareamento em dentes vitais, pode ser utilizado peróxido de carbamida ou hidrogênio com duas técnicas: a técnica de autoaplicação supervisionada, com utilização de moldeira individual carregada com peróxido em menores concentrações (4% a 22%), e a de consultório, que utiliza agentes clareadores em maiores concentrações (20% a 38%).

Muitos pacientes submetidos a tratamentos clareadores têm dentes restaurados e, uma vez que o mecanismo de clareamento dental envolve processos químicos, isso poderia causar alterações nas propriedades físicas e mecânicas tanto dos tecidos dentais quanto dos materiais restauradores, por isso é de grande importância estudar os efeitos dos agentes clareadores sobre essas superfícies.

O teste de microdureza é um método bastante utilizado para a determinação das propriedades mecânicas de diferentes substratos. Um outro método recentemente utilizado para a mensuração das propriedades mecânicas de tecidos dentais e materiais restauradores é a ultramicrodureza (ou nanoendentação). Diferente do que é preconizado para o teste de microdureza convencional, no qual a área da endentação é determinada opticamente após sua realização, para o teste de ultramicrodureza, a profundidade da endentação é monitorada durante o carregamento e descarregamento da força. Assim as propriedades mecânicas de um material podem ser calculadas por meio de uma curva de força-deslocamento e não baseada em informações visuais (Oliver; Pharr, 1992; Mahoney et al., 2000; Bengtson, 2010). Além de não necessitar visualizar a marca da endentação, os testes de ultramicrodureza permitem o emprego de cargas menores, da ordem de

mili-Newtons (mN), dessa forma, esse ensaio permite a avaliação das propriedades mecânicas de regiões extremamente finas, como a interface dente/restauração.

Existem poucos relatos na literatura sobre a dureza na interface dente/restauração. A maioria dos estudos que analisam os efeitos de agentes clareadores na interface adesiva avaliam a resistência adesiva em substratos previamente expostos ao peróxido, porém pouco se sabe sobre os efeitos dos clareadores na interface dente/restauração de restaurações já existentes.

Na tentativa de contribuir para o maior entendimento do efeito dos agentes clareadores nessa interface, este estudo se propõe a avaliar a dureza da superfície de esmalte, da resina composta e da interface dente/restauração, por meio de testes de ultramicrodureza, visando a definição quanto à necessidade ou não de substituição de restaurações de resina composta após o tratamento clareador.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O esmalte dental maduro é o tecido mais mineralizado do corpo humano, possuindo um conteúdo inorgânico de 96%, composto por cristais de fosfato e de cálcio sob a forma de hidroxiapatita, 3% de água e 1% de material orgânico, que é constituído principalmente por proteínas como a amelogenina e a enamelinina (Angker; Swain, 2006).

Os cristais de hidroxiapatita são retangulares com tamanho na ordem de nanômetros (nm), e são organizados e mantidos unidos por uma camada de proteína não muito maior que 2nm. Essa estrutura organizada forma um prisma de esmalte, que possui aproximadamente 5 micrômetros (μm) de diâmetro e é encapsulado por uma fina camada rica em proteína denominada bainha do prisma. Apesar de constituir apenas uma pequena porcentagem do conteúdo do esmalte dental, essa proteína é importante para a regulação das propriedades mecânicas desse tecido (He; Swain, 2008; Garrido et al., 2011). Dessa forma, quanto menor a quantidade de material orgânico no esmalte, mais friável é esse tecido dental (An et al., 2012). Entre os prismas existem regiões interprismáticas, que são ricas em proteína e apresentam cristais de hidroxiapatita dispostos desorganizadamente (Zhou; Hsiung, 2007; Angker; Swain, 2006).

O esmalte dental apesar de ser um tecido cristalino altamente mineralizado apresenta alguma permeabilidade, o que permite a difusão de substâncias e a troca iônica com o meio bucal. É esta característica de membrana semipermeável que possibilita a ação dos agentes clareadores (Hegedüs et al., 1999; Rodrigues et al., 2001; Pinheiro, 2009).

Os mecanismos pelos quais os agentes clareadores promovem o clareamento dental são à base de reações de oxidação. O peróxido de hidrogênio é o ingrediente ativo dos clareadores dentais e é um potente agente oxidante (Park et al., 2004; Eimar et al., 2012).

O peróxido de hidrogênio tem um baixo peso molecular e por isso é capaz de se difundir pelo esmalte dental através das regiões intra e interprismáticas, que são compostas principalmente por proteínas, até alcançar o limite amelo-dentinário e a dentina (Hegedüs et al., 1999; Park et al., 2004; Ubaldini et al., 2013).

Em contato com o dente, o peróxido de hidrogênio se decompõe formando radicais livres, íons de oxigênio reativo e ânions peróxido, que podem ser os radicais hidroxil, peridroxil e ânions superóxido. Essas moléculas reativas são altamente instáveis e são capazes de oxidar componentes orgânicos e inorgânicos, incluindo os cromóforos (Dahl; Pallesen, 2003).

Conforme se difundem para o interior da estrutura dental, esses radicais livres oxidam as macromoléculas de pigmentos promovendo a clivagem das suas ligações químicas, transformando a longa cadeia molecular em cadeias moleculares menores, que não são pigmentadas, tornando o dente visualmente mais claro (Dahl; Pallesen, 2003; Joiner, 2006).

Os pigmentos (ou cromóforos) são compostos orgânicos de moléculas de carbono de alto peso molecular, que possuem cadeias moleculares longas e complexas. Esses pigmentos presentes no interior das estruturas dentais mineralizadas provocam um aumento do índice de absorção de luz pelo elemento dental, dando a impressão de dentes escurecidos. As moléculas derivadas da quebra das ligações químicas apresentam então cadeias mais curtas e de menor peso molecular, o que proporciona uma menor absorção de luz, permitindo assim o restabelecimento das propriedades ópticas do elemento dental (Dahl; Pallesen, 2003; Joiner, 2006).

A teoria da clivagem dos cromóforos é bastante aceita e reportada na literatura, porém os mecanismos pelos quais os agentes clareadores promovem o clareamento dental ainda não estão completamente esclarecidos.

Eimar et al. (2012), questionam a teoria da destruição de cromóforos, pois relatam que a presença desses cromóforos nunca foi detectada por nenhum teste e que, se eles existirem, sua concentração no interior do elemento dental deve ser mínima e, por isso não é possível atribuir o efeito clareador do peróxido a esse fato. Os autores suportam a hipótese de que os agentes clareadores promovem uma oxidação dos componentes orgânicos do esmalte dental, uma vez que não foi detectada nenhuma alteração no seu conteúdo inorgânico. A oxidação promove alterações morfológicas transformando a matriz orgânica transparente em opaca, diminuindo assim a translucidez do esmalte, mascarando a coloração da dentina subjacente.

O efeito causado pela maior dispersão da luz pela superfície e consequente diminuição da translucidez do esmalte é conhecido como efeito de vidro-fosco, o

qual também foi reportado por outros autores (Markovic et al., 2007; Ushigome et al., 2009).

Apesar do estudo de Eimar et al. (2012), não indicar alteração no conteúdo inorgânico do esmalte dental submetido ao peróxido de hidrogênio, outros autores (Bistey et al., 2007; Berger et al., 2010; Cavalli et al., 2011) encontraram uma diminuição significativa no conteúdo de cálcio e fosfato do esmalte dental após o clareamento com peróxido de hidrogênio tanto em baixas quanto em altas concentrações.

Ushigome et al. (2009), observaram que o esmalte dental tratado com peróxido de hidrogênio apresentou alterações nos seus constituintes orgânicos, enquanto que o tratamento com peróxido de carbamida provocou uma descalcificação do esmalte, mesmo com a utilização de soluções com valor de pH acima do valor de pH crítico (5,5). Assim, a dissolução de cálcio foi maior com o uso do peróxido de carbamida do que com o peróxido de hidrogênio, e a maior dissolução de cálcio está relacionada com o aumento da rugosidade superficial do esmalte.

Além do aumento da rugosidade, a diminuição do conteúdo mineral do esmalte dental está relacionada com outras alterações morfológicas da superfície como o aumento da porosidade intra e interprismática e a erosão (Fu et al., 2007; Jiang et al., 2008; Dominguez et al., 2012). Entretanto, outros estudos relataram que tais alterações não são consideradas clinicamente significantes (Park et al., 2004; Joiner, 2007; Abouassi et al., 2011).

Alterações mais severas da topografia do esmalte dental foram encontradas, contudo, quando as amostras foram expostas a produtos com pH baixo. Sun et al. (2011) avaliaram os efeitos do peróxido de hidrogênio a 30% em pH ácido e neutro sobre o esmalte dental humano. Para isso, fragmentos de 3mm x 4mm x 4mm foram obtidos do terço médio da face vestibular de 24 pré-molares recém extraídos. Os espécimes foram divididos em 3 grupos (n=9). Um grupo ficou imerso em uma solução de peróxido de hidrogênio a 30% com pH≈3,6 por 4 horas. Outro grupo ficou imerso em uma solução de peróxido de hidrogênio a 30% com pH≈7,0 por 4 horas, e o último grupo ficou imerso em água destilada (pH≈6,8) pelo mesmo período. Os autores avaliaram a propriedade mecânica, a estrutura química, a morfologia da superfície do esmalte dental e a alteração de cor do elemento dental, e observaram que os espécimes imersos na solução de peróxido com pH neutro apresentaram

menos efeitos deletérios que os espécimes que ficaram na solução ácida e que ambos tiveram a mesma eficiência no clareamento dental. Assim como outros autores (Sulieman et al., 2004; Joiner, 2007; Xu et al., 2011; Sa et al., 2013), eles concluíram que a desmineralização da estrutura dental é mais comumente causada por processos de erosão ácida do que pelo peróxido em si.

O pH do meio tem forte efeito na química do peróxido de hidrogênio, pois diferentes moléculas reativas de oxigênio podem ser originadas dependendo do pH. Desse modo, em ambiente básico apenas uma baixa energia de ativação é necessária para o início do processo de degradação do peróxido de hidrogênio (Yap; Wattanapayungkul, 2002; Dahl; Pallesen, 2003). Segundo Malkondu et al. (2011), em pH 9,5 a 10,8 há maior formação de radicais peridroxil (HO_2^-), que são extremamente reativos, têm um grande poder oxidativo e são capazes de aumentar em 50% a eficiência clareadora quando comparado com clareadores que apresentam outros valores de pH.

Apesar de o pH básico produzir radicais livres mais oxidantes, o pH ácido mantém o peróxido de hidrogênio estável, evitando sua degradação precoce (Sa et al., 2013). Sendo assim, alguns clareadores que contêm maior concentração de peróxido de hidrogênio são comercializados com pH baixo.

Com o intuito de minimizar a perda mineral pelo substrato dental durante o procedimento clareador, substâncias como fluoretos e/ou cálcio foram adicionados na formulação dos géis clareadores (Joiner; Thakker, 2004).

Borges et al. (2009) estudaram os efeitos da adição de cálcio e fluoreto na formulação de um gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35% por meio de teste de microdureza da superfície e da subsuperfície do esmalte dental humano. Para o preparo dos géis clareadores contendo cálcio e fluoreto, os autores modificaram o mesmo gel de peróxido de hidrogênio a 35% utilizado no estudo acrescentando, respectivamente, 0,2% de cloreto de cálcio e 0,2% de fluoreto de sódio. Os resultados mostraram que a superfície e subsuperfície tratadas com o peróxido de hidrogênio a 35% apresentaram redução da microdureza, enquanto que a adição de cálcio e fluoreto ao gel clareador aumentaram significativamente a microdureza do esmalte.

Cavalli et al. (2011) também concluíram em seu estudo *in vitro* que a adição de fluoreto ou cálcio aos géis clareadores contendo peróxido de carbamida a 10% foi

capaz de minimizar a desmineralização do esmalte dental provocada pelos agentes clareadores.

Apesar desses estudos comprovarem que a adição de cálcio aos agentes clareadores é capaz de minimizar os efeitos deletérios do peróxido no esmalte dental, da Costa Soares et al. (2013) observaram uma diminuição da microdureza do esmalte exposto a um agente clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35% contendo cálcio em sua composição.

Uma vez que alguns pacientes que procuram pelo clareamento dental também possuem restaurações em resina composta, é importante conhecer o efeito do peróxido de hidrogênio sobre esse material restaurador.

As resinas compostas são constituídas basicamente por uma matriz orgânica (resinosa), partículas de carga e um agente de união (silano). A matriz inorgânica é composta por partículas de carga, que podem ser mais comumente de quartzo, sílica ou vidro, e foram incorporadas à matriz resinosa com o objeto de melhorar as propriedades mecânicas das resinas compostas. O silano atua como um agente de união entre as partículas de carga e a matriz orgânica. A união formada é extremamente estável e permite a dissipação de tensões pelo material restaurador. A matriz resinosa contém monômeros orgânicos usualmente à base de metacrilato (Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, ou Bis-EMA) que estabelecem ligações cruzadas no momento da polimerização. Além disso também contém um agente inibidor, a hidroquinona, e um iniciador, a canforoquinona. Quando ativada pela luz azul, a canforoquinona transforma-se em radical livre, que quebra as duplas ligações de carbono dos monômeros presentes na matriz, iniciando, assim, o processo de polimerização (Anusavice, 2005).

Nas resinas compostas, a matriz orgânica é a porção mais afetada pelos agentes clareadores. Os radicais livres formados pela oxidação do peróxido de hidrogênio induzem a clivagem oxidativa das cadeias poliméricas e quebram as duplas ligações dos monômeros não reagidos da resina composta, que são as regiões mais vulneráveis do material (Hannig et al., 2007; Yu et al., 2008; Durner et al., 2011). Além disso, os radicais livres podem agir na interface matriz orgânica/carga e causar o descolamento das partículas de carga da matriz resinosa (Wattanapayungkul; Yap, 2003).

Avaliando imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Malkondu et al. (2011) observaram que as partículas de carga de uma resina nanoparticulada

ficaram mais salientes após a exposição do material a um agente clareador à base de peróxido de carbamida a 20%, e foi observado também uma erosão evidente da matriz orgânica desse mesmo material.

Essas possíveis alterações estruturais das resinas compostas causadas pelo peróxido, podem resultar em aumento da rugosidade superficial (Gurgan; Yalcin, 2007; Wang et al., 2011; Rattacaso et al., 2011; Varanda et al., 2013), indução da adesão bacteriana (Mor et al., 1998; Steinberg et al., 1999), maior suscetibilidade à abrasão (Hannig et al., 2007) e alterações das propriedades físicas, como a microdureza, que tem relação direta com a qualidade e a durabilidade clínica dessas restaurações (Silva Costa et al., 2009; Kwon et al., 2010; Malkondu et al., 2011; AlQahtani, 2013; Mourouzis et al., 2013).

Há um grande número de relatos na literatura sobre a microdureza de diferentes substratos submetidos a produtos à base de peróxido, contudo os resultados apresentados tanto para a dureza de materiais restauradores quanto de esmalte dental são controversos. De acordo com Lopes et al. (2002) e Attin et al. (2009), tal inconsistência nos resultados pode ser explicada pelas diferenças no delineamento dos estudos, como o tipo de substrato utilizado, local de armazenamento, tipo e concentração do agente clareador, tempo de exposição, pH da solução e teste de dureza empregado na avaliação.

O teste de microdureza é bastante empregado nos estudos, pois determina indiretamente a qualidade de diferentes substratos. Nos tecidos dentais, a dureza está relacionada ao ganho ou perda mineral (Kodaka et al., 1992; Attin et al., 2007) e em estudos com materiais resinosos utilizados para procedimentos restauradores na odontologia, a dureza tem sido aplicada para o conhecimento de propriedades relacionadas com a composição (Chung, 1990), grau de polimerização (Rueggeberg; Craig, 1988; Rode et al., 2007) e degradação superficial do material (Yap et al., 2001).

Um outro método utilizado para a mensuração das propriedades mecânicas dos tecidos dentais e materiais restauradores é a ultramicrodureza (ou nanodureza). A maior vantagem da ultramicrodureza em relação à microdureza convencional é a possibilidade da mensuração da dureza em regiões finas (Qian et al., 2005).

Esse ensaio permite a aplicação de cargas extremamente baixas, na grandeza de mili-Newtons (mN), e dessa forma, as endentações obtidas são em proporção de micrômetros (μm).

Para a mensuração da dureza dinâmica, o endentador mais comumente utilizado para os ensaios de ultramicrodureza é o endentador Berkovich, cuja ponta de diamante tem um formato de uma pirâmide de três lados (Angker; Swain, 2006).

A dureza é considerada dinâmica, pois no ensaio, a profundidade da endentação é monitorada por computador continuamente durante os ciclos de carregamento e descarregamento da força. Em uma endentação, a carga é aplicada sobre uma superfície até atingir um valor máximo. Nesse ponto a força pode ser mantida constante por um determinado intervalo de tempo para permitir a acomodação do material, e em uma etapa final, a carga é retirada controladamente até o endentador não estar mais em contato com a superfície. As informações obtidas durante o ciclo de carregamento e descarregamento geram uma curva de força-deslocamento (Figura 2.1), e a partir dessa curva as propriedades mecânicas de um material podem ser calculadas (Mahoney et al., 2000).

Figura 2.1 – Curva de força-deslocamento. P_{max} = carga máxima aplicada; h_{max} = profundidade da endentação durante a aplicação da carga máxima; h_f = profundidade final da endentação após o descarregamento da força (Adaptado de Oliver; Pharr, 1992)

Os testes de microdureza baseiam-se na mensuração visual da marca deixada pela endentação, enquanto que o cálculo da ultramicrodureza leva em consideração a profundidade de penetração do endentador, e não somente a área

da endentação, promovendo, assim, maior precisão nas mensurações (Oliver; Pharr, 1992; Van Meerbeek et al., 1993).

O teste de ultramicrodureza fornece, além dos valores de dureza dinâmica, os valores de módulo de elasticidade do material testado. Essas propriedades referem-se à resistência dos materiais à deformação plástica e elástica, respectivamente, e isso permite uma visão geral das propriedades mecânicas tanto de materiais quanto de tecidos dentais (Ge et al., 2005).

Em uma revisão de literatura recente, Elfallah e Swain (2013) observaram que os estudos que avaliaram o efeito de agentes clareadores sobre o esmalte dental utilizando o teste de ultramicrodureza, apresentaram diminuição significativa da dureza e do módulo de elasticidade do esmalte dental após o clareamento (Hairul Nizam et al., 2005; Azer et al., 2009; Garrido et al., 2011). Dessa forma, a redução das propriedades mecânicas do esmalte dental foi mais significativa quando cargas menores foram utilizadas (abaixo de 500mN), independente do tipo do agente clareador ou do meio de armazenamento empregado.

Segundo Ushigome et al. (2009), porém, as alterações morfológicas e a diminuição da dureza do esmalte dental decorrentes do tratamento clareador ficaram limitadas a uma profundidade de 50µm abaixo da superfície. Como as alterações estruturais ficam restritas apenas à superfície, cargas menores detectam melhor essas alterações (Elfallah; Swain, 2013).

A utilização do teste de ultramicrodureza em materiais não-homogêneos, como a resina composta, pode não determinar as propriedades do material em si, pois as partículas de carga desses materiais podem ser maiores que a ponta do endentador. Nesse caso, as mensurações obtidas podem refletir apenas as propriedades mecânicas da carga ou da matriz resinosa (Yap et al., 2004).

Desse modo, a aplicação de cargas pequenas com limitada profundidade de penetração não gera informações suficientes sobre as resinas compostas, portanto, quanto mais profunda a endentação, mais representativos são os valores de dureza e módulo de elasticidade (El-Safty et al., 2012). O aumento da área de projeção do endentador garante a inclusão de uma área mais ampla do material com maior probabilidade de abranger carga e matriz resinosa (Masouras et al., 2008).

Em seu estudo, El-Safty et al. (2012) avaliaram as propriedades mecânicas de dez resinas compostas com diferentes porcentagens de partículas de carga, subdividas em três categorias, resinas tipo *flow*, *bulk-fill* e convencional nanohíbrida.

Para essa avaliação a carga máxima aplicada pelo endentador nos espécimes foi de 10mN, e a partir dos dados obtidos, os autores concluíram que as resinas tipo *flow* e *bulk-fill* apresentaram menores valores de ultramicrodureza e módulo de elasticidade quando comparado com as resinas convencionais nanohíbridas e, quanto maior a quantidade de carga presente nas resinas compostas, melhores são suas propriedades mecânicas. Os autores também elucidam que os valores de dureza e módulo de elasticidade de alguns materiais podem ser diferentes devido, provavelmente, às diferenças na composição das resinas compostas, como a quantidade de carga e o tipo de componente resinoso presentes.

De acordo com Angker e Swain (2006), o teste de ultramicrodureza tem um alto potencial para a investigação das propriedades mecânicas do esmalte condicionado e da interface adesiva formada com a resina composta. Entretanto há apenas poucos dados disponíveis sobre esse assunto na literatura.

A dureza é um método indireto de avaliação do grau de conversão dos adesivos resinosos (Takahashi et al., 2002; Cadenaro et al., 2005), sendo que um menor grau de conversão está relacionado com uma maior liberação de monômeros não reagidos, aumento da permeabilidade do adesivo aos fluidos dentinários e menor resistência adesiva (Cadenaro et al., 2005; Kanehira et al., 2006; Wang et al., 2006; Cadenaro et al., 2010).

Os dentes estão sujeitos a forças mecânicas muito intensas durante o ciclo mastigatório. Sendo assim, os materiais restauradores e a sua fixação ao dente estão sujeitos a essas cargas. Adesivos que apresentam melhores propriedades mecânicas têm maior capacidade de suportar as forças mastigatórias. Além disso, melhores propriedades mecânicas da interface adesiva podem estar relacionadas com uma maior estabilidade da adesão e, conseqüentemente, uma melhor performance clínica e maior longevidade das restaurações (Takahashi et al., 2002; Breschi et al., 2008; Yasuda et al., 2008; Tagami et al., 2010; Navarra et al., 2012; Heintze, 2013).

Além da camada de adesivo, o teste de ultramicrodureza permite a análise da camada formada pela infiltração do adesivo no esmalte condicionado, denominada de camada híbrida em esmalte (Pashley; Tay, 2001). O condicionamento ácido promove uma desmineralização inter e intracristalina no esmalte dental. O adesivo é capaz de se infiltrar entre os cristais de hidroxiapatita e encapsulá-los, promovendo uma adesão pela formação de uma camada híbrida (Hobson; McCabe, 2002). A

profundidade da infiltração do adesivo no esmalte é variável, mas pode se estender até uma profundidade de 1,5µm. Apesar de a hibridização estar mais relacionada com a adesão em dentina, esse mesmo processo também ocorre em esmalte, porém, a camada híbrida formada em esmalte é mais difícil de ser conseguida e possui uma composição muito mais variável do que a camada híbrida formada em dentina (Mine et al., 2010).

Não há relato na literatura sobre a ultramicrodureza das resinas compostas e da interface dente/restauração de restaurações já existentes que foram expostas aos agentes clareadores. A maioria dos estudos encontrados avaliaram a resistência adesiva em substratos previamente expostos ao peróxido.

A análise da influência dos agentes clareadores no esmalte, no adesivo e na resina composta em restaurações pré-existentes que não têm indicação de substituição é de grande importância para a obtenção de informações sobre a degradação da interface dente/restauração (Barcellos et al., 2010). A interface adesiva é a mais suscetível à degradação, e o contato com agentes químicos presentes nos géis clareadores pode afetar a longevidade da adesão (Dudek et al., 2013). Estudos recentes se propuseram a avaliar o efeito dos agentes clareadores na interface adesiva de restaurações pré-existentes.

No estudo de Barcellos et al. (2010), os autores avaliaram o efeito de géis clareadores contendo 10%, 15% e 20% de peróxido de carbamida na resistência adesiva do esmalte e da dentina à resina composta. Nesse estudo o mesmo adesivo (Adper Single Bond 2) e a mesma resina composta (Filtek Z350) foram utilizados para a confecção de todas as restaurações. O fator de variação foi o peróxido de carbamida em diferentes concentrações. Analisando os resultados, os autores observaram a existência de uma correlação linear entre a maior concentração de peróxido de carbamida (15% e 20%) e menores valores de resistência adesiva entre as restaurações em esmalte e em dentina, porém a interface esmalte-restauração demonstrou ser mais sensível à ação do peróxido de carbamida do que a interface dentina-restauração. Assim, os autores observaram que a magnitude do dano na interface adesiva depende da concentração do agente clareador utilizado.

Dudek et al. (2013) também avaliaram a ação do peróxido de carbamida na resistência adesiva da resina composta ao esmalte e à dentina por meio de teste de microtração, mas utilizando diferentes sistemas adesivos. Para esse estudo, 240 terceiros molares foram divididos em dois grupos (grupo esmalte e grupo dentina) e

cada grupo foi dividido em 4 subgrupos, correspondente aos 4 sistemas adesivos testados. Foram avaliados um adesivo do sistema condicione e lave de dois passos (Gluma Comfort Bond) e três adesivos autocondicionantes (Clearfil SE Bond, Adper Prompt e iBond). O clareador utilizado foi o peróxido de carbamida a 20%, que foi aplicado sobre a interface adesiva dos espécimes por 8 horas por dia ao longo de 2 meses, totalizando 25 aplicações. Os resultados mostraram que os adesivos autocondicionantes Adper Prompt e iBond apresentaram redução significativa na resistência adesiva ao esmalte e que os adesivos Gluma e Clearfil apresentaram uma alteração pequena, mas significativa na resistência adesiva ao mesmo substrato. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que os agentes clareadores podem induzir a degradação do adesivo, e que a extensão e o mecanismo de degradação da interface depende da composição do sistema adesivo, do seu protocolo de aplicação e do substrato dental utilizado na adesão.

Complementando o estudo acima mencionado, Roubickova et al. (2013) utilizaram os mesmos materiais e protocolos, porém avaliaram a resistência da interface adesiva por meio de teste de microinfiltração. Os resultados mostraram que o adesivo do tipo condicione e lave Gluma apresentou o melhor selamento marginal após a exposição ao peróxido e que um pequeno, mas significativo aumento na microinfiltração foi encontrado na margem localizada entre esmalte e o adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond, indicando uma susceptibilidade à degradação durante o clareamento. Dessa forma, os autores relatam que o risco de uma falha marginal devido a degradação da interface adesiva pelos radicais livres de oxigênio é particularmente relevante para os sistemas autocondicionantes, que são mais susceptíveis à sorção de água e à penetração de pequenas moléculas de oxigênio do que os adesivos do sistema condicione e lave.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo *in vitro* teve como objetivo:

- Avaliar a ultramicrodureza das superfícies de esmalte dental, de uma resina composta nanoparticulada, do adesivo dentário e da camada híbrida em esmalte expostos a agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35%, em três tempos distintos: antes, imediatamente após o clareamento e após 7 dias de armazenamento em saliva artificial.
- Analisar por meio de microscopia eletrônica de varredura a interface dente/restauração nesses três tempos distintos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, sendo considerado isento de análise por utilizar dentes bovinos, conforme anexo A.

4.1 Seleção dos dentes e Preparo das Cavidades

Para esse estudo foram utilizados 40 dentes incisivos bovinos que foram mantidos sob refrigeração em água destilada. Os dentes foram limpos com água e pedra-pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) com o auxílio de uma escova de Robinson (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) em baixa rotação e observados em lupa estereoscópica (MiView USB Digital Microscope, Chinavasion Wholesale, Guangdong, CN) com uma lente de aumento de 50 vezes. Foram selecionados os dentes que não apresentavam trincas ou fraturas na face vestibular. Após essa análise, os dentes foram submetidos a cortes no sentido transversal no limite amelo-cementário para a separação da porção coronária da raiz (Labcut 1010, Extec, Enfield, CT, USA).

As coroas dentais foram incluídas em resina epóxi (Resina Arazyn 1.0#08, Redelease, SP, Brasil) com o auxílio de recipientes plásticos desmontáveis. Após a polimerização da resina, a face vestibular dos espécimes foi planificada com lixa de carbureto de silício de granulação 600 sob refrigeração em politriz (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) para a remoção da camada de resina que encobriu a superfície do esmalte durante a inclusão e planificação da superfície do esmalte dental (Figura 4.1). A superfície oposta dos espécimes também foi lixada e planificada para que fossem obtidas superfícies paralelas, o que é imprescindível para a correta leitura da ultramicrodureza.

Figura 4.1 – Matriz desmontável (A). Dente incluído em resina epóxi e com a superfície vestibular do esmalte dental planificada (B)

Após a planificação do esmalte, uma cavidade de 2x2x2mm foi confeccionada no terço médio de cada dente com o auxílio de pontas diamantadas cilíndricas nº 1090 (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) e instrumentos cortantes manuais (cortante duplo #14/15 e cortante simples black #26, SS White/ Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A cada 10 cavidades confeccionadas, a ponta diamantada era trocada e os instrumentos cortantes manuais eram afiados. As dimensões do preparo foram avaliadas com uma sonda milimetrada (Trinity, São Paulo, SP, Brasil) tanto em largura e comprimento quanto em profundidade (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Cavidade confeccionada e com as suas dimensões sendo avaliadas por uma sonda milimetrada

4.2 Confeção das Restaurações

Todas as restaurações dos corpos de prova utilizaram o mesmo ácido fosfórico, adesivo dentinário e a mesma resina composta. As marcas utilizadas e a composição desses materiais estão no Quadro 4.1.

	Fabricante	Composição	Lote
Condicionador ácido: Acid Gel	Villevie, Joinville, SC, Brasil	Ácido fosfórico 37%	—
Adesivo: Adper Single Bond 2	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Etanol, Bis-GMA, HEMA, sílica coloidal, silano, 2-hidroxietilmetacrilato, glicerol 1, 3 dimetacrilato, colpolímero de ácido acrílico e ácido itacônico, UDMA.	123600553
Resina Composta: Filtek Z350 XT	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Bis-GMA, Bis-EMA, sílica coloidal, sílica-óxido de zircônia, silano, UDMA, dimetacrilato polietilenoglicol, TEGDMA, 2,6-di-terc-butil-p-cresol (BHT), pigmentos	1320400385

Quadro 4.1 – Fabricante e Composição dos materiais utilizados na confecção das restaurações

Cada cavidade foi condicionada com ácido fosfórico a 37% (Villevie, Joinville, SC, Brasil) pelo tempo aproximado de 15 segundos em esmalte e 10 segundos em dentina. Após esse tempo a cavidade foi lavada abundantemente com água por 15 segundos e seca com jato de ar. Um algodão compactado foi posicionado no interior da cavidade durante a secagem para evitar a desidratação da dentina.

A seguir o adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) foi aplicado em duas camadas e espalhado ativamente na cavidade com o auxílio de um aplicador descartável *microbrush* (KG Sorensen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) por

um tempo de 15 segundos por camada. Os 15 segundos de aplicação vigorosa do adesivo possibilitaram a evaporação do solvente (Reis et al., 2013), e o excesso de adesivo foi removido da cavidade com um pincel seco. Após a aplicação das duas camadas de adesivo, este foi fotoativado por 10 segundos (Elipar™ Freelight 2, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA).

As cavidades foram restauradas com a resina composta nanoparticulada Filtek Z350 XT na cor A2E (3M ESPE, St. Paul, MN, USA). A resina composta foi inserida na cavidade com uma espátula antiaderente Suprafill nº1 (Duflex/ SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) em três incrementos de acordo com a Figura 4.3.

Figura 4.3 - Esquema da inserção dos incrementos da restauração. Foram realizados 2 incrementos oblíquos (1 e 2) e 1 incremento horizontal (3)

Os dois primeiros incrementos foram oblíquos e após a inserção de cada incremento, a resina composta foi fotoativada por 20 segundos pelo aparelho fotoativador LED Elipar™ Freelight 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), que possui 1000mW/cm^2 de intensidade de energia. O terceiro e último incremento foi inserido na horizontal, e sobre esse último incremento foram posicionadas uma tira de poliéster e uma lâmina de vidro (Figura 4.4). Sobre a lâmina de vidro uma carga de 3,5Kg foi aplicada por 10 segundos, com o auxílio de um equipamento de pressão, para padronizar a pressão exercida sobre a resina e promover melhor acomodação e maior lisura da superfície da restauração (Figura 4.5). Após o tempo de 10 segundos, a carga e a lâmina de vidro foram removidas, e a fotoativação desse último incremento foi realizada sobre a tira de poliéster por 20 segundos (Figura 4.6).

Após a confecção das restaurações, os corpos de provas foram armazenados em água destilada em estufa a 37°C por sete dias.

Figura 4.4 – Tira de poliéster e lâmina de vidro sobre o último incremento de resina composta

Figura 4.5 - Equipamento de pressão com carga de 3,5Kg (A). Vista aproximada da aplicação da carga sobre a restauração (B)

Figura 4.6 – Fotoativação do último incremento sobre a tira de poliéster

Após esse período inicial de armazenamento, a superfície vestibular dos espécimes foi novamente planificada com lixa de carbureto de silício com granulação de número 600 sob refrigeração em politriz para a remoção dos possíveis excessos da restauração sobre o esmalte preparado, e exposição da linha dente/adesivo/restauração. Em seguida o polimento foi realizado com uma sequência de lixas de carbureto de silício de granulações decrescentes (800, 1200, 2400 e 4000) para a obtenção de uma superfície lisa e polida (Figura 4.7 e 4.8), o que é essencial para a correta mensuração da ultramicrodureza. Entre uma lixa e outra, os espécimes foram lavados em cuba ultrassônica (Digital Ultrasonic Cleaner CD-4820, Kondortech, São Carlos, SP, Brasil) por 480 segundos para a remoção dos grânulos de abrasivo das lixas. Logo após o polimento, os corpos de prova foram armazenados em saliva artificial a 37°C (Scaramucci et al., 2011). Esquema da confecção das restaurações ilustrado na Figura 4.9.

Figura 4.7 – Polimento dos corpos de prova

Figura 4.8 – Corpo de prova com a restauração confeccionada

Figura 4.9 – Esquema ilustrando a confecção das restaurações

4.3 Grupos experimentais

Os corpos de prova foram divididos em quatro grupos (n=10), sendo que cada grupo corresponde a um clareador diferente. Quatro clareadores dentais à base de peróxido de hidrogênio a 35% foram utilizados nesse estudo, o Total Blanc Office (Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), o Whiteness HP Blue (FGM, Joinville, SC, Brasil), o Whiteness HP (FGM, Joinville, SC, Brasil), e o Pola Office (SDI Limited, Bayswater, Victoria, Australia). O tempo e o protocolo de aplicação de cada clareador foi de acordo com as instruções de cada fabricante (Quadro 4.2).

Clareadores	Fabricante/ Lote	Composição	Protocolo de Aplicação
Total Blanc Office (TB)	Nova DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil 13060921	Peróxido de hidrogênio 35%, espessante, extratos vegetais, amida, agente sequestrante, glicol, corante, água	1 sessão 2 aplicações de 20 minutos por sessão
Whiteness HP Blue (HPB)	FGM, Joinville, SC, Brasil 160913	Peróxido de hidrogênio 35%, espessantes, pigmento inerte violeta, agentes neutralizantes, gluconato de cálcio, glicol, água deionizada	1 sessão 1 aplicação de 40 minutos por sessão
Whiteness HP (HP)	FGM, Joinville, SC, Brasil 130213	peróxido de hidrogênio 35%, espessante, corante vermelho, glicol, água	1 sessão 3 aplicações de 15 minutos por sessão
Pola Office Bulk Kit (PO)	SDI Limited, Bayswater, Victoria, Austrália 122363	Líquido: peróxido de hidrogênio 35%, água Pó: espessante, catalisador, pigmento, agente dessensibilizante	1 sessão 3 aplicações de 8 minutos por sessão

Quadro 4.2 – Composição e protocolo de aplicação de cada agente clareador utilizado no estudo

4.4 Procedimento clareador

Passadas 24 horas do polimento, a aplicação dos géis clareadores nos corpos de prova foi realizada. Com o auxílio de uma seringa graduada, foi aplicado 0,1ml de gel clareador sobre as superfícies da restauração e do esmalte adjacente (Figura 4.10). Todo procedimento clareador foi realizado em temperatura ambiente sem a utilização de fontes de luz. Durante o procedimento clareador, o gel foi movimentado com um aplicador descartável para a liberação de eventuais bolhas de oxigênio formadas. Para a remoção desse gel, os corpos de prova foram lavados com água destilada e em seguida secos com jato de ar. Após o clareamento, os corpos de prova ficaram armazenados em saliva artificial em estufa a 37°C.

Figura 4.10 – Agentes clareadores sobre os corpos de prova

4.5 Mensuração do pH dos géis clareadores

Os valores de pH de cada gel foram mensurados com um pHmetro (Hanna HI 2221, Hanna Instruments, Tamboré, SP, Brasil) no momento da mistura do gel clareador (inicial) e ao final do tempo da primeira aplicação (20 minutos para o Total Blanc Office, 40 minutos para o Whiteness HP Blue, 15 minutos para o Whiteness HP e 8 minutos para o Pola Office).

4.6 Ensaio de Ultramicrodureza

As mensurações da dureza foram realizadas com o equipamento Ultramicrodurômetro (DUH-211S, Shimadzu, Tokyo, Japan) (Figuras 4.11, 4.12 e 4.13) com carga de 100mN em esmalte dental e em resina composta, e de 10mN na interface dente/restauração. Foram realizadas 10 endentações, com distância de 10µm entre si, em cada substrato (esmalte dental, resina composta, adesivo e camada híbrida em esmalte) de cada corpo de prova em três momentos distintos: antes, imediatamente após o clareamento e sete dias após a exposição ao agente clareador (Figuras 4.14 e 4.15).

Figura 4.11 – Equipamento Ultramicrodurômetro DUH-211S

Figura 4.12 – Endentação do corpo de prova

Figura 4.13 – Imagens da interface dente/restauração observadas em um microscópio óptico em um aumento de 10X (A) e 50X(B). E: esmalte dental, A: adesivo, RC: resina composta

Figura 4.14 – Ilustração das endentações nos substratos

Figura 4.15 - Esquema ilustrando as endentações nos substratos e os três momentos das mensurações da dureza

4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

Quatro corpos de prova foram confeccionados para a leitura da microscopia eletrônica de varredura, sendo um para cada agente clareador. A seleção dos dentes, os preparos das cavidade e o procedimento restaurador foram realizados com os mesmos materiais e de acordo com a metodologia apresentada anteriormente.

Os corpos de prova confeccionados foram fixados a um dispositivo acoplado a uma cortadeira metalográfica (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) e receberam cortes a fim de selecionar um quadrado de 10mm x 10mm da porção central do corpo de prova que continha a restauração inteira e esmalte dental adjacente.

Antes das moldagens, os corpos de provas foram lavados em cuba ultrassônica por 480 segundos e secos com jato de ar para a remoção de resíduos da saliva artificial aderidos na superfície da amostra.

Com o auxílio de um tubo de PVC (Tigre, Joinville, SC, Brasil) de meia polegada, os corpos de prova foram moldados com o silicone de adição Express XT (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), primeiro com a pasta densa, seguida de leve alívio, e então com a pasta fluída de baixa viscosidade.

Os moldes obtidos foram vazados com a resina epóxi Epofix (Struers, Ballerup, Denmark) para obtenção das réplicas dos corpos de prova (Figura 4.16).

Figura 4.16 – Corpo de prova com 10mm x 10mm de dimensão (A). Molde do corpo de prova (B). Réplica em resina epóxi (C)

A primeira moldagem dos corpos de prova foi realizada 24 horas após o polimento das restaurações para a obtenção das réplicas referentes ao período inicial.

Cada corpo de prova foi exposto a um clareador diferente seguindo o mesmo protocolo apresentado nas seções 4.3 e 4.4.

Após o procedimento clareador os corpos de prova foram novamente moldados e as réplicas de resina epóxi foram obtidas. O mesmo procedimento foi realizado após 7 dias de armazenamento em saliva artificial.

As réplicas foram fixadas em *stubs* próprios para a microscopia, com auxílio de fita dupla face de carbono, e submetidos à metalização com platina (Figura 4.17).

Figura 4.17 – Réplicas posicionadas no suporte próprio para a leitura das microscopias eletrônicas de varredura

As análises foram realizadas em microscópio Quanta 600 FEG (FEI, Hillsboro, Oregon, USA), equipado com espectrômetro de raios X por dispersão de energia (EDS) Quantax 400 (tecnologia SDD – Silicon Drift Detector) e software Esprit (Bruker, Atibaia, SP, Brasil). A rotina de trabalho estipulada compreendeu a coleta de imagens de elétrons secundários para a caracterização morfológica.

As leituras foram realizadas na interface dente/restauração com um aumento de 1000x e 2000x.

4.8 Análise estatística

Para a análise estatística, a média das 10 endentações de cada substrato foi calculada, e os valores de dureza obtidos em cada substrato exposto a um agente clareador diferente foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade das variâncias. Os dados apresentaram aderência à curva de normalidade e homogeneidade, dessa forma, para a análise estatística os testes paramétricos utilizados foram a análise de variância (ANOVA) de 2 fatores sendo 1 com vinculação e o teste complementar de Tukey com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Os resultados consistiram de 4800 valores de dureza referentes a 4 substratos (esmalte dental, resina composta, adesivo e camada híbrida em esmalte), 4 clareadores, 3 tempos de mensuração, 10 corpos de prova e 10 endentações ($4 \times 4 \times 3 \times 10 \times 10 = 4800$).

Das 10 endentações realizadas em cada substrato, um valor de média foi calculado, resultando em um total de 480 dados, sendo 120 dados para cada substrato ($n=10$).

5.1 Dureza do Esmalte Dental

Os 120 valores de dureza do esmalte dental (Tabela 5.1) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa GMC. A ANOVA apontou significância estatística ao nível de 5% entre as médias dos valores obtidos nos diferentes tempos ($p=0,01$) e na interação agentes x tempo ($p=0,005$). Ver tabela 5.2.

Tabela 5.1 – Médias dos valores de dureza Berkovich das endentações realizadas no esmalte dental

	Total Blanc	Whiteness HP Blue	Whiteness HP	Pola Office
Inicial	304,6 310,8 314,4 303,1 360,2 265,5 314,9 329,3 322,2 319	307,4 350,9 340,1 313,8 372,9 361 371,4 338,7 350,7 303,4	308,2 285,7 301,3 368,3 364,9 284,4 292,1 311,3 352,8 309,5	359,2 335,9 340,6 318,3 347,6 320,4 295,9 352,8 373,4 388,3
Após Clareamento	354,9 307,9 329,3 311,7 346,9 279,5 369,2 349 349,7 295,6	348,7 319,7 350,3 319,7 382,2 331,2 339,1 337,1 343,6 356,7	312,8 305,3 262,7 365,4 321,1 308,4 335,4 360,1 342,3 287,1	283,9 319,2 319,8 307,1 331,5 254,5 309,3 301,8 258,1 301,8
7 dias	305,6 356,3 342,5 332,7 344,8 344,8 363,6 375,9 294,1 364,8	315,6 328,8 365,5 350,5 375,5 320,5 350,1 327,8 353,8 354,6	346 344 275,3 309 352,9 278,2 334,3 370,9 325,5 315,3	296,2 363 359,4 343,7 328,5 323 381,5 341,3 386,3 355,4

Tabela 5.2 – ANOVA 2 fatores sendo 1 com vinculação

Fonte de variação	S.Q	G.L.	Q.M	F	p
Entre agentes	5596.1333	3	1865.3778	1.99	0,13
Resíduo I	33680.5352	36	935.5704		
Entre tempo	5950.0000	2	2975.0000	4.60	0,01*
Inter AxT	13144.6670	6	2190.7778	3.39	0,005*
Resíduo II	46544.6641	72	646.4537		
Variação total	104916.0000	119			

* Estatisticamente significativo ao nível de 5% ($p < 0,05$)

S.Q= Soma dos Quadrados; G.L= Graus de Liberdade; Q.M= Quadrados Médios

Avaliando os valores de dureza obtidos no esmalte dental nos diferentes tempos de mensuração (inicial, após clareamento, após 7 dias), o teste de Tukey apontou diferença estatisticamente significativa entre a dureza do esmalte após a exposição aos agentes clareadores e após 7 dias ($T=13,63$), sendo que os valores de dureza após clareamento ($m=322,7 \pm 18,58$) apresentaram redução significativa da dureza quando comparado com os valores obtidos após 7 dias de armazenamento ($m=340,0 \pm 10,08$). A média dos valores de dureza inicial do esmalte ($m=331,6 \pm 13,33$) não apresentou diferença estatística com os outros tempos. Ver tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Médias e desvios padrão dos valores de dureza do esmalte dental

Tempo	Agentes				Média (tempo)
	Total Blanc (TB)	HP Blue (HPB)	HP	Pola Office (PO)	
Inicial	314,4±23,65	341±25,45	327,8±32,10	343,2±27,39 a	331,6±13,33 ab
Após clareamento	329,3±29,32 AB	342,8±18,52 A	320,0±31,93 AB	298,6±25,75 Bb	322,7±18,58 a
Após 7 dias	342,5±25,93	344,3±19,97	325,2±31,23	347,8±27,38 a	340±10,08 b
Médias (agentes)	328,7±14,06	342,7±1,65	324,4±3,9	329,9±27,18	

Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Análise entre as colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas).

Analisando as médias da interação agentes x tempo por meio do teste de Tukey ($T=38,5$), pode-se notar que no período inicial, não foi encontrada diferença significativa entre os valores de dureza do esmalte exposto aos diferentes agentes clareadores (TB, HPB, HP, PO).

Logo após o clareamento observou-se uma diminuição significativa da dureza do esmalte que foi exposto ao agente PO ($m=298,6\pm25,75$) em relação a dureza proporcionada pelo agente HPB ($m=342,8\pm18,52$). Os valores obtidos para a dureza do esmalte exposto aos agentes TB ($m=329,3\pm29,32$) e HP ($m=320\pm31,93$) não apresentaram diferença estatística com os valores obtidos com o agente HPB e nem com o agente PO.

Após 7 dias da aplicação do clareador, não foi observada diferença estatística entre os agentes clareadores.

Durante os três tempos avaliados por esse estudo, os valores de dureza do esmalte exposto aos agentes TB, HPB e HP não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. O agente PO foi o único que provocou uma diminuição significativa do valor da dureza do esmalte dental imediatamente após a exposição ao agente clareador ($m=298,6\pm25,75$), porém após 7 dias de armazenamento em saliva artificial ($m=347,8\pm27,38$) o valor de dureza aumentou e retornou ao valor apresentado inicialmente ($m=343,2\pm27,39$). Ver gráfico 5.1.

Gráfico 5.1 – Médias da dureza Berkovich na interação entre as variáveis tempo e agentes clareadores no esmalte dental. TB = Total Blanc Office, HPB = Whiteness HP Blue, HP = Whiteness HP, PO = Pola Office

5.2 Dureza da Resina Composta

Os 120 valores de dureza da resina composta (Tabela 5.4) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), que não detectou diferença estatisticamente significativa entre os valores de dureza ($p > 0,05$). Ver tabela 5.5, tabela 5.6 e gráfico 5.2.

Tabela 5.4 – Médias dos valores de dureza Berkovich das endentações realizadas na resina composta

	Total Blanc	Whiteness HP Blue	Whiteness HP	Pola Office
Inicial	70,7	69,3	69,8	69,7
	72,1	70,8	69,5	68,7
	72,2	71,7	71	71,6
	70,9	68,7	71,5	71,4
	70,8	74,9	71,2	72,4
	68,2	67,7	70,9	68,8
	72,2	68,4	71	67,7
	70,8	71,7	73,5	70,4
	71,3	69,1	70,3	71,3
	70,5	70,7	71,2	72,3
Após Clareamento	72,7	71,6	71,4	70,5
	71,9	71,1	70,5	70,6
	70	71	72,3	69,8
	65,8	74,9	70,6	71,3
	73,5	72,5	71,9	72,2
	69,8	64,6	70,4	66,1
	71	68,4	73,3	72,3
	71,4	70,9	74,3	73,9
	74,1	63,4	72,2	69,6
	69,3	69,8	70,9	70,7
7 dias	72	71,4	70	70,5
	73,6	72,3	73,1	65,2
	71,4	71,3	70,5	71,4
	72,4	73,3	68,5	72,4
	73,7	70,3	68,5	70,3
	72,7	69,6	68,9	69,8
	69,5	68	70	70,2
	71,6	70,6	72,1	72,1
	67,5	71	71,8	71
	72	70,9	73,7	71,9

Tabela 5.5 – Médias e desvios padrão dos valores de dureza da resina composta

Tempo	Agentes				Médias (tempo)
	Total Blanc (TB)	HP Blue (HPB)	HP	Pola Office (PO)	
Inicial	71±1,17	70,3±2,13	71±1,07	70,4±1,64	70,7±0,38
Após Clareamento	70,9±2,40	69,8±3,50	71,8±1,30	70,7±2,07	70,8±0,82
Após 7 dias	71,6±1,87	70,9±1,44	70,7±1,87	70,5±2,87	70,9±0,48
Médias (agentes)	71,2±0,38	70,3±0,55	71,2±0,57	70,5±0,15	

Tabela 5.6 – ANOVA 2 fatores sendo 1 com vinculação

Fonte de variação	S.Q.	G.L.	Q.M.	F	p
Entre agentes	17.3625	3	5.57875	1.06	0,38
Resíduo I	197.2000	36	5.4778		
Entre tempo	1.4125	2	0.7063	0.22	0,19
Inter AxT	13.8875	6	2.3146	0.73	0,37
Resíduo II	228.3875	72	3.1720		
Variação total	458.2500	119			

S.Q= Soma dos Quadrados; G.L= Graus de Liberdade; Q.M= Quadrados Médios

Gráfico 5.2 - Médias da dureza Berkovich na interação entre as variáveis tempo e agentes clareadores na resina composta. TB = Total Blanc Office, HPB = Whiteness HP Blue, HP = Whiteness HP, PO = Pola Office

5.3 Dureza do Adesivo

Os 120 valores de dureza da camada de adesivo (Tabela 5.7) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), que apontou diferença significativa entre os agentes clareadores ($p=0,019$). Por meio do teste de Tukey ($T=2,14$), foi detectada diferença apenas entre a dureza proporcionada pelos agentes TB ($m=20,4\pm0,97$) e PO ($m=22,7\pm0,79$), mas na análise da interação agentes x tempo, não foi detectada diferença entre nenhum dos grupos ($p=0,27$). Ver tabela 5.8, tabela 5.9 e gráfico 5.3.

Tabela 5.7 – Médias dos valores de dureza Berkovich das endentações realizadas no adesivo

	Total Blanc	Whiteness HP Blue	Whiteness HP	Pola Office
Inicial	22,4 21,7 15,9 28,4 22,8 19,1 19,5 16,2 19,4 20,8	16,6 24,5 25,2 20,9 20,9 23,8 22 23,2 22,9 18,6	19,4 22,9 18,4 20,3 21,9 19,2 21,5 25,7 23,4 28,4	19,2 22,4 21,3 23,5 19,4 18,6 24,7 23,8 26,7 18,5
Após Clareamento	21 18,1 19,1 16 16,1 20,3 22,7 19,9 18,6 20,9	19,7 15,7 22,1 20,5 25,1 21,3 18,5 18 21,1 28	20,3 21,8 19,4 26,3 23,9 17,1 22,1 23,7 21,9 22,6	22,7 21,6 25 20,3 22,9 23,7 25,3 21,5 26,6 23,2
7 dias	23,3 24,1 17,3 20,1 19,4 20,8 22,6 24,4 19,7 20,5	18,3 16,5 22,3 17,6 15,1 16,8 22,3 21,3 26,1 22,9	23,6 22,6 19,9 23,6 22,9 21,5 18,1 23,6 24,2 26,6	21,9 19,1 23,5 23,4 23,8 22,2 24,8 22,3 24,9 23,8

Tabela 5.8 – ANOVA 2 fatores sendo 1 com vinculação

Fonte de variação	S.Q	G.L.	Q.M	F	p
Entre agentes	105.8961	3	35.2987	3.71	0,019*
Resíduo I	342.8448	36	9.5235		
Entre tempo	2.2523	2	1.1262	0.17	0,15
Inter AxT	51.6227	6	8.6038	1.28	0,27
Resíduo II	483.6263	72	6.7170		
Variação total	986.2422	119			

* Estatisticamente significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$)

S.Q= Soma dos Quadrados; G.L= Graus de Liberdade; Q.M= Quadrados Médios

Tabela 5.9 – Médias e desvios padrão dos valores de dureza da camada de adesivo

Tempo	Agentes				Médias (tempo)
	Total Blanc (TB)	HP Blue (HPB)	HP	Pola Office (PO)	
Inicial	20,6±3,61	21,9±2,68	22,1±3,12	21,8±2,85	21,6±0,68
Após clareamento	19,3±2,14	21,0±3,52	21,9±2,54	23,3±1,92	21,4±1,68
Após 7 dias	21,2±2,28	19,9±3,55	22,7±2,36	23,0±1,69	21,7±1,44
Média (agentes)	20,4±0,97 A	20,9±1,00 AB	22,2±0,42 AB	22,7±0,79 B	

Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Análise entre as linhas (maiúsculas).

Gráfico 5.3 – Médias da dureza Berkovich na interação entre as variáveis tempo e agentes clareadores no adesivo. TB = Total Blanc Office, HPB = Whiteness HP Blue, HP = Whiteness HP, PO = Pola Office

5.4 Dureza da Camada Híbrida em Esmalte

Os 120 valores de dureza da camada híbrida formada pelo esmalte dental e o adesivo (Tabela 5.10) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e diferenças estatísticas foram encontradas entre os agentes ($p < 0,001$), entre os tempos ($p < 0,001$) e na interação agentes x tempo ($p < 0,001$). Ver tabela 5.11.

Tabela 5.10 – Médias dos valores de dureza Berkovich das endentações realizadas na camada híbrida em esmalte

	Total Blanc	Whiteness HP Blue	Whiteness HP	Pola Office
Inicial	495	413,4	405,2	397,8
	457,4	539,3	404,6	422,2
	377,3	469,9	333,7	418,5
	429,2	344,3	402,8	329,8
	510,4	573,9	448,7	493,2
	424,3	525,7	387,7	372,5
	501,6	548,1	361,5	395
	540,2	573,1	402	314,5
	498,7	566,2	526	359
	466	391,8	409,2	412
Após Clareamento	537,1	474,2	427,1	284,1
	427,7	438,8	408,1	226,6
	365,8	526,8	319,7	194,5
	394,5	351	551,4	180,9
	419,4	567,1	473,1	237,4
	498,8	465,8	365,8	244,9
	504,7	465,6	486,7	211,5
	339,3	449,1	471,2	195
	529,5	482,5	482,1	243
	522,9	569,9	411,6	234,9
7 dias	492,3	483,3	491,9	284,1
	518,3	357,9	423,7	299,9
	373,7	531,5	417,7	396,3
	395,7	378,9	476,2	377
	466,5	446,9	511,6	311,7
	450,9	383,9	386,4	311,4
	539	564,7	351,7	409,3
	558,3	439,7	526	451
	584,5	437,1	515,2	503,6
	509,5	508,9	491,6	417,6

Tabela 5.11 – ANOVA 2 fatores sendo 1 com vinculação

Fonte de variação	S.Q	G.L.	Q.M	F	p
Entre agentes	408604.2813	3	136201.4219	22.12	<0,001*
Resíduo I	221662.3906	36	6157.2886		
Entre tempo	52012.8008	2	26006.4004	8.51	<0,001*
Inter AxT	147858.1250	6	24643.0215	8.06	<0,001*
Resíduo II	220116.4063	72	3057.1724		
Variação total	1050254.0000	119			

* Estatisticamente significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$)

S.Q= Soma dos Quadrados; G.L= Graus de Liberdade; Q.M= Quadrados Médios

As médias dos valores de dureza da camada híbrida em esmalte dental estão dispostas na tabela 5.12.

Tabela 5.12 – Médias e desvios padrão dos valores de dureza da camada híbrida em esmalte dental

Tempo	Agentes				Média (tempo)
	Total Blanc (TB)	HP Blue (HPB)	HP	Pola Office (PO)	
Inicial	470±48,9 ABa	494,5±84,16 Aa	408,1±51,37 Ba	391,4±51,24 Ba	441±49,15 a
Após clareamento	454±73,26 Aa	479,1±64,61 Aa	439,7±67,01 Aa	225,3±30,61 Bb	399,5±117,29 b
Após 7 dias	488,9±68,03 Aa	453,3±68,68 ABa	465,2±60,17 Aa	376,2±75,64 Ba	445,9±48,77 a
Médias (agentes)	470,9±17,47 A	475,6±20,82 A	437,7±28,60 A	331±91,83 B	

Letras distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Análise entre as colunas (minúsculas) e entre linhas (maiúsculas).

Por meio do teste de Tukey, foi observado que na comparação entre os agentes ($T=54,6$), o agente clareador PO ($m=331\pm91,83$) promoveu menores valores de dureza na camada híbrida em esmalte em relação aos outros agentes.

Entre os diferentes tempos ($T=29,6$), uma diminuição significativa dos valores de dureza foi observada após a exposição aos agentes clareadores ($m=399,5\pm117,29$). Os valores de dureza inicial ($m=441\pm49,15$) e após 7 dias ($m=445,9\pm48,77$) não foram considerados estatisticamente significantes.

Na comparação entre as médias dos grupos referentes à interação agentes x tempo ($T=83,7$) pode-se salientar que após o clareamento houve uma redução da dureza da camada híbrida em esmalte exposto ao agente clareador PO ($m=225,3\pm30,61$).

Após 7 dias a dureza da camada híbrida em esmalte exposta ao agente PO ($m=376,2\pm75,64$) apresentou diferença estatística quando comparado com a dureza proporcionada pelos agentes TB ($m=488,9\pm17,47$) e HP ($m=465,2\pm60,17$). Porém, o valor de dureza obtido com o agente HPB ($m=453,3\pm68,68$) não foi considerado diferente do valor de dureza proporcionado pelos demais agentes.

Nos três tempos distintos onde a dureza da camada híbrida em esmalte foi mensurada, os resultados obtidos para os agentes TB, HPB e HP nesses diferentes tempos não apresentaram diferenças significantes. Apenas o agente PO ($m=225,3\pm30,61$) promoveu redução da dureza após o clareamento. Ver gráfico 5.4.

Gráfico 5.4 – Médias da dureza Berkovich na interação entre as variáveis tempo e agentes clareadores na camada híbrida em esmalte. TB = Total Blanc Office, HPB = Whiteness HP Blue, HP = Whiteness HP, PO = Pola Office

5.5 Valor de pH dos géis clareadores

Os valores de pH dos quatro géis clareadores utilizados estão dispostos na tabela 5.13.

Tabela 5.13 – Valores de pH inicial e final dos agentes clareadores

Clareadores	pH inicial	pH final
Total Blanc (TB)	7,22	6,33
Whiteness HP Blue (HPB)	8,89	8,85
Whiteness HP (HP)	6,65	6,04
Pola Office (PO)	3,56	3,80

5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após análise das réplicas em MEV, as imagens obtidas permitiram a avaliação da morfologia superficial da interface dente/restauração antes, imediatamente após o clareamento e 7 dias após a exposição aos diferentes agentes clareadores.

Para a correta localização da interface dente/restauração, primeiro a restauração inteira foi visualizada em um menor aumento (70x) (Figura 5.1) para que depois fosse possível a observação da área de interesse em um aumento maior (1000x e 2000x).

Figura 5.1 - Eletromicrografia com aumento de 70x onde é possível a visualização da restauração inteira e do esmalte adjacente

As imagens obtidas através da MEV foram agrupadas de acordo com o agente clareador utilizado.

5.6.1 MEV – Total Blanc Office

As eletromicrografias da interface dente/restauração exposta ao agente clareador Total Blanc Office (TB) revelaram que imediatamente após o clareamento não foi observada nenhuma alteração morfológica quando comparado com as imagens referentes ao período inicial, porém após o armazenamento por 7 dias, uma pequena fenda foi observada entre o esmalte dental e o adesivo (Figura 5.2).

Figura 5.2 - Imagens MEV da interface dente/restauração que foi exposta ao agente Total Blanc Office. Imagem A: período inicial aumento de 1000x; B: período inicial aumento 2000x; C: imediatamente após clareamento aumento de 1000X; D: imediatamente após clareamento aumento de 2000x; E: 7 dias após o clareamento aumento de 1000x; F: 7 dias após o clareamento aumento de 2000x. Nas imagens: A = adesivo; E = esmalte; RC = resina composta. Setas brancas apontam fendas entre o esmalte dental e o adesivo

5.6.2 MEV – Whiteness HP Blue

As eletromicrografias da interface dente/restauração exposta ao agente clareador Whiteness HP Blue (HPB) mostraram que imediatamente após o clareamento, pequenas fendas foram formadas entre o esmalte dental e o adesivo, e no interior da camada de adesivo. Porém, após o armazenamento por 7 dias em saliva artificial não foram visualizadas fendas entre o esmalte e o adesivo (Figura 5.3).

Figura 5.3 - Imagens MEV da interface dente/restauração que foi exposta ao agente Whitening HP Blue. Imagem A: período inicial aumento de 1000x; B: período inicial aumento 2000x; C: imediatamente após clareamento aumento de 1000X; D: imediatamente após clareamento aumento de 2000x; E: 7 dias após o clareamento aumento de 1000x; F: 7 dias após o clareamento aumento de 2000x. Nas imagens: A = adesivo; E = esmalte; RC = resina composta. Seta branca aponta uma fenda entre o esmalte dental e o adesivo. Setas pretas apontam fendas na camada de adesivo

5.6.3 MEV – Whiteness HP

Nas eletromicrografias da interface dente/restauração exposta ao agente clareador Whiteness HP (HP) foi possível observar a formação de pequenas fendas entre o esmalte dental e o adesivo imediatamente após a exposição ao agente clareador. Apesar de menos evidente, ainda foram observadas fendas pequenas entre esses dois substratos mesmo após o armazenamento por 7 dias em saliva artificial (Figura 5.4).

Figura 5.4 - Imagens MEV da interface dente/restauração que foi exposta ao agente Whiteness HP. Imagem A: período inicial aumento de 1000x; B: período inicial aumento 2000x; C: imediatamente após clareamento aumento de 1000x; D: imediatamente após clareamento aumento de 2000x; E: 7 dias após o clareamento aumento de 1000x; F: 7 dias após o clareamento aumento de 2000x. Nas imagens: A = adesivo; E = esmalte; RC = resina composta. Setas brancas apontam fendas entre o esmalte dental e o adesivo

5.6.4 MEV – Pola Office

Nas eletromicrografias da interface dente/restauração foi possível a visualização de uma fenda bem evidente entre o esmalte dental e o adesivo imediatamente após o clareamento com o agente Pola Office (PO). Mesmo após um período de 7 dias de armazenamento em saliva artificial, uma fenda ainda foi observada entre esses dois substratos (Figura 5.5).

Figura 5.5 - Imagens MEV da interface dente/restauração que foi exposta ao agente Pola Office. Imagem A: período inicial aumento de 1000x; B: período inicial aumento 2000x; C: imediatamente após clareamento aumento de 1000x; D: imediatamente após clareamento aumento de 2000x; E: 7 dias após o clareamento aumento de 1000x; F: 7 dias após o clareamento aumento de 2000x. Nas imagens: A = adesivo; E = esmalte; RC = resina composta. Setas brancas apontam as fendas entre o esmalte dental e o adesivo

6 DISCUSSÃO

O teste de ultramicrodureza, também conhecido como nanoendentação, foi introduzido como um método confiável para o estudo das alterações mecânicas dos tecidos dentais mineralizados (Habelitz et al., 2002; Azer et al., 2009).

Devido à possibilidade de se utilizar cargas extremamente baixas, Ge et al. (2005) conseguiram avaliar as propriedades mecânicas do prisma de esmalte e da bainha do prisma utilizando cargas de 1mN e 0,3mN, respectivamente. Como o esmalte dental não é um tecido homogêneo, a utilização de cargas extremamente baixas pode estar relacionada com a análise das propriedades de componentes isolados do esmalte dental, e não refletir as propriedades desse tecido como um todo.

A utilização de uma carga de 100mN para a avaliação da ultramicrodureza do esmalte dental foi adotada no presente estudo, pois uma carga maior é capaz de promover uma endentação mais profunda e mais representativa do esmalte dental como um todo. Mahoney et al. (2000) utilizaram cargas de 50mN e 150mN em seu estudo sobre as propriedades mecânicas do esmalte dental decíduo e observaram que os valores de dureza obtidos com as duas cargas não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Dessa forma, optou-se por uma carga de 100mN acreditando que seja capaz de promover uma endentação visível e representativa das propriedades mecânicas do esmalte dental. Essa carga de 100mN está situada dentro do valor que Elfallah e Swain (2013) consideram como carga baixa, que é de até 500mN.

Seguindo o mesmo princípio adotado para a escolha da carga aplicada sobre o esmalte dental, a carga de 100mN também foi utilizada para a avaliação da ultramicrodureza da resina composta. Esse material restaurador também apresenta uma característica não homogênea, pois possui partículas de carga de diferentes tamanhos entremeadas a uma matriz orgânica. De acordo com Masouras et al. (2008) e El-Safty et al. (2012), uma carga maior promove uma endentação mais profunda, que é capaz de abranger as partículas de carga e a matriz orgânica simultaneamente, e assim, os valores de dureza obtidos são mais representativos.

Para a avaliação da dureza do adesivo e da camada híbrida em esmalte, a carga adotada foi de 10mN, pois era desejada uma endentação menor devido à

espessura fina dessas camadas. Dessa forma, uma endentação com carga de 10mN ainda conseguia ser visualizada no aumento de 100x no microscópio óptico, e não ultrapassava o limite dessas camadas.

Uma das variáveis desse estudo foi o agente clareador. Foram utilizados géis clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35%, pois de acordo com Elfallah e Swain (2013), agentes clareadores utilizados para o clareamento em consultório promoveram uma redução mais significativa das propriedades mecânicas do esmalte dental do que os agentes clareadores utilizados na técnica de autoaplicação. E de acordo com Jiang et al. (2008), o peróxido de hidrogênio em maiores concentrações causou maior diminuição da microdureza do esmalte dental comparado com concentrações menores desse mesmo agente. Dessa forma, alterações mais significativas seriam causadas por clareadores à base de peróxido de hidrogênio em maiores concentrações.

Os quatro clareadores utilizados (Total Blanc Office, Whiteness HP Blue, Whiteness HP, Pola Office) apresentam diferenças em suas composições e no valor do pH.

O clareador Whiteness HP Blue possui cálcio em sua composição. Segundo Borges et al. (2009) e Cavalli et al. (2011), a adição de cálcio ao gel clareador é capaz de minimizar a perda mineral causada pelos agentes clareadores.

Um estudo que também utilizou o agente clareador Whiteness HP Blue (da Costa Soares et al., 2013) observou uma diminuição significativa da microdureza do esmalte exposto a esse agente clareador. Os resultados obtidos no presente estudo revelaram que a dureza do esmalte dental exposto ao agente clareador Whiteness HP Blue manteve-se estatisticamente semelhante à dureza antes da sua aplicação. Essa manutenção da dureza poderia estar relacionada com o efeito benéfico da adição do cálcio aos agentes clareadores, pois, de fato, não foi observada diminuição da dureza do esmalte dental. Entretanto, os valores de dureza do esmalte exposto aos agentes Total Blanc Office e Whiteness HP também não apresentaram alterações em comparação com os valores obtidos inicialmente. Uma vez que esses outros agentes não possuem cálcio em sua composição, não é possível afirmar que a adição de cálcio ao agente clareador foi capaz de minimizar a perda mineral durante o procedimento clareador. Esses resultados foram diferentes dos encontrados por Borges et al. (2009), onde foi observado um aumento da microdureza após o procedimento clareador com um agente contendo cálcio. Essa

diferença nos resultados pode ser atribuída ao fato de que no estudo citado anteriormente, os autores modificaram um gel de peróxido de hidrogênio acrescentando cloreto de cálcio, ao passo que o clareador Whiteness HP Blue já apresenta o cálcio em sua composição. Desse modo as diferentes formas de preparação do gel clareador contendo cálcio podem influenciar na sua ação durante o procedimento clareador.

É de relevância o conhecimento do valor do pH dos clareadores dentais, pois tem sido observada diminuição da dureza do esmalte dental após o uso de agentes clareadores com pH baixo (Joiner, 2007; Sun et al., 2011). A mensuração do valor de pH dos agentes clareadores foi realizada em dois tempos para verificar se não havia alteração durante o processo de oxidação do peróxido de hidrogênio. Em todos os clareadores os valores do pH final foram semelhantes ao do pH inicial.

O agente clareador Pola Office foi o único agente que apresentou um valor de pH abaixo de valor de pH crítico de 5,5 (pH 3,6 – 3,8), e o único que promoveu diminuição da dureza do esmalte dental e da camada híbrida em esmalte imediatamente após a sua aplicação. Esses achados suportam a teoria de outros autores (Suliman et al., 2004; Joiner, 2007; Sun et al., 2011; Xu et al., 2011) de que a desmineralização da estrutura dental está mais relacionada a processos de erosão ácida devido ao baixo valor de pH da formulação do clareador do que ao efeito do peróxido em si.

Os estudos que utilizaram o teste de ultramicrodureza para avaliar as propriedades mecânicas do esmalte dental exposto ao peróxido de hidrogênio ou ao peróxido de carbamida (Hairul Nizam et al., 2005; Azer et al., 2009; Ushigome et al., 2009; Garrido et al., 2011) apresentaram diminuição da dureza superficial do esmalte dental após a exposição ao agente clareador. Esses resultados foram diferentes dos encontrados no presente estudo, pois apesar de ter sido observada redução da ultramicrodureza nos substratos dentais expostos a um agente clareador (PO), nenhuma alteração foi observada com a utilização dos demais agentes (TB, HPB e HP). O fato de os outros estudos terem detectado diminuição significativa da dureza com todos os agentes clareadores pode ser explicado pelas cargas utilizadas na mensuração da ultramicrodureza, que foram bem menores (até 20mN) que a carga utilizada nesse estudo (100mN). Dessa forma, as cargas menores podem ter detectado alterações que ficaram restritas apenas à superfície e que podem não ser clinicamente significantes.

Apesar de o agente clareador Pola Office ter causado uma redução significativa da dureza do esmalte dental e da camada híbrida em esmalte imediatamente após sua aplicação, após o armazenamento por 7 dias em saliva artificial o valor da dureza superficial desses substratos aumentou significativamente e retornou ao valor encontrado inicialmente.

A recuperação da dureza pode ser atribuída ao armazenamento em saliva artificial, pois de acordo com Sa et al. (2013), a saliva artificial pode promover alguma remineralização da superfície do esmalte dental devido ao alto nível de cálcio e fosfato presentes nessa solução, que podem interagir com o esmalte durante o armazenamento e induzir à remineralização. Entretanto, em outros estudos (Garrido et al., 2011; da Costa Soares et al., 2013), o armazenamento dos corpos de prova em saliva artificial não aumentou a dureza do esmalte exposto a agentes clareadores, desse modo, ainda não há um consenso sobre o ação positiva do armazenamento em saliva artificial.

O esmalte dental e a camada híbrida em esmalte apresentam comportamentos semelhantes de dureza frente à ação dos agentes clareadores. Apesar desse comportamento semelhante, os valores de dureza obtidos foram diferentes, sendo que na camada híbrida foram obtidos valores de dureza maiores que no esmalte. Essa diferença dos valores de dureza pode estar associada ao tamanho da endentação. Como na camada híbrida em esmalte foi aplicada uma carga de 10mN, a profundidade da endentação nesse substrato foi menor que a profundidade da endentação obtida no esmalte dental e, de acordo com Zhou e Hsiung (2007), há uma relação entre a dureza e a profundidade da endentação nos tecidos cristalinos, sendo que a dureza diminui com o aumento da endentação promovida por cargas maiores.

Uma resina nanoparticulada foi utilizada no presente estudo por apresentar boas propriedades físicas e mecânicas, que possibilitam seu uso tanto para a confecção de restaurações em dentes posteriores quanto em dentes anteriores (Anusavice, 2005).

Os resultados mostraram que os agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35% não causaram alteração da ultramicrodureza superficial da resina composta nanoparticulada Filtek Z350 XT. Na literatura não foi encontrado nenhum trabalho que avaliou as alterações superficiais em resina composta nanoparticulada por meio do teste de ultramicrodureza. Os trabalhos encontrados estão relacionados

com a microdureza superficial dessas resinas compostas e os efeitos dos agentes clareadores sobre esse material restaurador ainda são controversos.

A maioria dos estudos não relatou alteração na microdureza superficial das resinas nanoparticuladas após exposição tanto ao peróxido de hidrogênio quanto ao peróxido de carbamida *in vitro* (Silva Costa et al., 2009) e *in situ* (Yu et al., 2008). Entretanto, uma diminuição da microdureza desse material também foi relatada em outros estudos (Malkondu et al., 2011; AlQahtani et al., 2013).

Essa divergência nos resultados pode ser explicada pela presença de diferentes componentes tanto na matriz orgânica quanto na matriz inorgânica das resinas compostas, sendo assim, mesmo os materiais que pertencem à mesma classificação podem reagir diferentemente a um mesmo agente clareador (Wang et al., 2011).

Quanto à composição da matriz orgânica, de acordo com Malkondu et al. (2011), UDMA e Bis-EMA apresentam maior peso molecular e possuem menos duplas ligações por unidade de peso, dessa forma, um maior peso molecular do monômero deixa a matriz resinosa menos suscetível à degradação pelo agente clareador. Uma vez que o efeito dos agentes clareadores nos materiais restauradores depende da sua profundidade de penetração, uma cadeia polimérica formada por moléculas de alto peso molecular dificulta a difusão do agente clareador através dessa cadeia.

O TEGDMA, por sua vez, é um monômero diluente incorporado à matriz resinosa para facilitar sua manipulação, uma vez que o Bis-GMA é um monômero de alta viscosidade. Porém, de acordo com AlQahtani et al. (2013), a incorporação do TEGDMA pode deixar a matriz orgânica menos resistente aos agentes clareadores.

A resina composta utilizada no presente estudo possui os monômeros UDMA, Bis-EMA e TEGDMA em sua composição. Como nenhuma alteração na microdureza foi encontrada após o clareamento, provavelmente o TEGDMA não deixa a matriz orgânica mais suscetível à ação deletéria dos agentes clareadores.

Melhores propriedades mecânicas da interface adesiva podem estar relacionadas com uma maior estabilidade da adesão e maior longevidade das restaurações (Takahashi et al., 2002; Breschi et al., 2008; Tagami et al., 2010). Porém, a interface adesiva é a mais suscetível à degradação, e a sua exposição aos agentes clareadores pode afetar a longevidade da restauração (Dudek et al., 2013). Com o intuito de avaliar as propriedades mecânicas da interface dente/restauração

após a exposição a diferentes agentes clareadores, o presente estudo foi o primeiro a avaliar os efeitos dos agentes clareadores sobre essa interface por meio do teste de ultramicrodureza.

O comportamento do adesivo do tipo condicione e lave de dois passos Adper Single Bond 2 frente à ação dos agentes clareadores foi semelhante ao comportamento da resina composta, pois em ambos nenhuma alteração da dureza foi detectada. A dureza de um adesivo apresenta correlação direta com a resistência adesiva (Tagami et al., 2010). Uma menor resistência adesiva está relacionada com uma maior suscetibilidade à degradação dos adesivos, e esta, por sua vez, depende da composição e do protocolo de aplicação do sistema adesivo (Dudek et al., 2013). Desse modo, os adesivos do tipo condicione e lave são menos suscetíveis à degradação pelo peróxido do que os adesivos autocondicionantes (Roubickova et al., 2013).

Como não houve alteração da dureza do adesivo, pode-se dizer que não houve alterações das suas propriedades mecânicas e dessa forma, a exposição aos agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35% não promoveu degradação do adesivo e não comprometeu a longevidade da restauração.

Analisando as imagens obtidas através da MEV, porém, foi possível visualizar a formação de fendas entre o esmalte dental e o adesivo nas amostras expostas aos quatro agentes clareadores utilizados. Esses resultados podem estar relacionados com os resultados de Dudek et al. (2013), que encontraram falhas predominantemente entre o esmalte dental e o adesivo analisando os padrões de fratura dos corpos de provas submetidos ao ensaio de microtração.

As fendas mais evidentes foram observadas imediatamente após exposição ao agente com o valor de pH mais baixo, o Pola Office. Com o clareador Total Blanc Office, uma pequena fenda foi observada apenas na réplica referente ao período de mensuração de 7 dias após a exposição ao agente clareador.

Por meio das imagens obtidas com a MEV, é possível avaliar a qualidade marginal das restaurações, que é um dos fatores responsáveis pelo seu sucesso clínico. A presença de fendas na interface entre o esmalte dental e o adesivo pode estar relacionada com a penetração de bactérias, fluidos e outros líquidos, que podem provocar sensibilidade, manchamento marginal, descolamento da restauração e até cárie secundária (Heintze, 2013).

Apesar da formação de fendas, não é possível afirmar que os agentes clareadores podem causar deterioração da integridade marginal das restaurações, pois após um período de 7 dias de armazenamento, parece que as fendas são menos evidentes.

Na prática clínica, é comum a realização do tratamento clareador sobre dentes que possuam alguma restauração. A avaliação da dureza dos substratos mostra que apesar da diminuição dos valores, houve recuperação dos mesmos após o período de armazenamento. Com isso, poderia-se inferir que não houve prejuízo das restaurações após o clareamento. Porém, a detecção de fendas entre o esmalte e o adesivo após os procedimentos clareadores mostra que alguma alteração nessa margem aconteceu, sendo necessário estudos clínicos para avaliar possíveis efeitos deletérios em dentes restaurados com resina composta e submetidos a tratamento clareador, ou seja, ainda não é possível prever o quanto a presença dessas pequenas fendas pode afetar a longevidade dessas restaurações.

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia utilizada e os resultados obtidos, é possível concluir que:

- Os efeitos dos clareadores sobre os substratos dentais dependem do valor do pH do agente clareador, pois o agente que apresentou o valor de pH mais baixo foi o único que promoveu uma diminuição da dureza do esmalte e da camada híbrida em esmalte, logo após sua aplicação. Contudo, os valores de dureza retornaram aos valores iniciais após 7 dias de armazenamento em saliva artificial.
- Os agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio a 35% não alteraram a dureza da resina composta e do adesivo.
- Fendas entre o esmalte dental e o adesivo foram visualizadas após aplicação dos clareadores, porém a fenda mais evidente foi encontrada após a aplicação do agente clareador com o pH mais baixo.

REFERÊNCIAS¹

Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clin Oral Invest*. 2011;15:673-80.

AlQahtani MQ. The effect of a 10% carbamide peroxide bleaching agent on the microhardness of four types of direct resin-based restorative materials. *Oper Dent*. 2013 May-Jun;38(3):316-23.

An B, Wang R, Arola D, Zhang D. The role property gradients on the mechanical behavior of human enamel. *J Mech Behav Biomed Mat*. 2012;9:63-72.

Angker L, Swain MV. Nanoindentation: application to dental hard tissue investigations. *J Mater Res*. 2006 Aug;21(8):1893-905.

Anusavice KJ. *Phillips materias dentários*. 11a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

Attin T, Betke H, Schippan F, Wiegand A. Potential of fluoridated carbamide peroxide gels to support post-bleaching enamel re-hardening. *J Dent*. 2007 Sep;35(9):755-9.

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

Azer SS, Machado C, Sanchez E, Rashid R. Effect of bleaching systems on enamel nanohardness and elastic modulus. *J Dent*. 2009;37:185-90.

Barcellos DC, Benetti P, Fernandes VV Jr, Valera MC. Effect of carbamide peroxide bleaching gel concentration on the bond strength of dental substrates and resin composite. *Oper Dent*. 2010 Jul-Aug;35(4):463-9. doi: 10.2341/09-242-L.

Bengtson CRG. Estudo in vitro da influência da dureza e módulo de elasticidade de sistemas adesivos na resistência de união à dentina humana [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

¹ De acordo com Estilo Vancouver

Berger SB, Cavalli V, Martin AA, Soares LE, Arruda MA, Brancalion ML, et al. Effects of combined use of light irradiation and 35% hydrogen peroxide for dental bleaching on human enamel mineral content. *Photomed Laser Surg.* 2010 Aug;28(4):533-8. doi: 10.1089/pho.2009.2506.

Bistey T, Nagy IP, Simó A, Hegedus C. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. *J Dent.* 2007 Apr;35(4):325-30.

Borges AB, Samezina LY, Fonseca LP, Yui KCK, Borges ALS, Torres CRG. Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Oper Dent.* 2009;34(5):593-7.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E, et al. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008;24:90–101.

Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2005;113:525-30.

Cadenaro M, Antonioli F, Codan B, Agee K, Tay FR, Dorigo Ede S, et al. Influence of different initiators on the degree of conversion of experimental adhesive blends in relation to their hydrophilicity and solvent content. *Dent Mat.* 2010;26(4) 288-94.

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 Surg.* 2011 May;29(5):319-25. doi: 10.1089/pho.2010.2797.

Chung KH. The relationship between composition and properties of posterior resin composites. *J Dent Res.* 1990 Mar;69(3):852-6.

da Costa Soares MU, Araújo NC, Borges BC, Sales Wda S, Sobral AP. Impact of remineralizing agents on enamel microhardness recovery after in-office tooth bleaching therapies. *Acta Odontol Scand.* 2013 Mar;71(2):343-8. doi: 10.3109/00016357.2012.681119. Epub 2012 May 8.

Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching - a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(4):292-304.

Dominguez JA, Bittencourt B, Michel M, Sabino N, Gomes JC, Gomes OM. Ultrastructural evaluation of enamel after dental bleaching associated with fluoride. *Microsc Res Tech*. 2012 Aug;75(8):1093-8. doi: 10.1002/jemt.22035.

Dudek M, Roubickova A, Comba L, Housova D, Bradna P. Effect of postoperative peroxide bleaching on the stability of composite to enamel and dentin bonds. *Oper Dent*. 2013 Jul-Aug;38(4):394-407. doi: 10.2341/11-429-L.

Durner J, Stojanovic M, Urcan E, Spahl W, Haertel U, Hickel R, et al. Effect of hydrogen peroxide on the three-dimensional polymer network in composites. *Dent Mater*. 2011 Jun;27(6):573-80. doi: 10.1016/j.dental.2011.02.013.

Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Amin WM, Martinez PP, et al. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *J Dent*. 2012 Dec;40(2):25-33.

Elfallah HM, Swain MV. A review of the effect of vital teeth bleaching on the mechanical properties of tooth enamel. *N Z Dent J*. 2013 Sep;109(3):87-96.

El-Safty S, Akhtar R, Silikas N, Watts DC. Nanomechanical properties of dental resin-composites. *Dent Mater*. 2012;28:1292-300.

Fu B, Hoth Hannig W, Hannig M. Effects of dental bleaching on micro- and nano-morphological alterations of the enamel surface. *Am J Dent*. 2007;20:35-40.

Garrido MA, Giráldez I, Ceballos L, Gómes del Río MT, Rodríguez J. Nanotribological behavior of tooth enamel rod affected by bleaching treatment. *Wear*. 2011 Jul;271(9-10):2334-9.

Ge J, Cui FZ, Wang XM, Feng HL. Property variations in the prism and the organic sheath within enamel by nanoindentation. *Biomaterials*. 2005;26:3333-9.

Gurgan S, Yalcin F. The effect of 2 different bleaching regimens on the surface roughness and hardness of tooth-colored restorative materials. *Quintessence Int*. 2007 Feb;38(2):e83-7.

Habelitz S, Marshall GW Jr, Balooch M, Marshall SJ. Nanoindentation and storage of teeth. *J Biomech*. 2002 Jul;35(7):995-8.

Hairul Nizam BR, Lim CT, Chng HK, Yap AUJ. Nanoindentation study of human premolars subjected to bleaching agents. *J Biomech.* 2005;38:2204-11.

Hannig C, Duong S, Becker K, Brunner E, Kahler E, Attin T. Effect of bleaching on subsurface micro-hardness of composite and polyacid modified composite. *Dent Mater.* 2007;23:198-203.

He LH, Swain MV. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008 Jan;1(1):18-29. doi: 10.1016/j.jmbbm.2007.05.001.

Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent.* 1999;27:509-15.

Heintze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dent Mater.* 2013 Jan;29(1):59-84. doi: 10.1016/j.dental.2012.07.158.

Hobson RS, McCabe JF. Relationship between enamel etch characteristics and resin-enamel bond strength. *Br Dent J.* 2002 April;192(8):463-8.

Jiang T, Ma X, Wang Y, Tong H, Shen X, Hu Y, et al. Investigation of the effects of 30% hydrogen peroxide on human tooth enamel by Raman scattering and laser-induced fluorescence. *J Biomed Opt.* 2008 Jan-Feb;13(1):14-9. doi: 10.1117/1.2870114.

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

Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent.* 2006;34(7):412- 9.

Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent.* 2007;35(12):889-96.

Kanehira M, Finger WJ, Hoffmann M, Endo T, Komatsu M. Relationship between degree of polymerization and enamel bonding strength with self- etching adhesives. *J Adhes Dent.* 2006;8(4):211-6.

Kodaka T, Debari K, Yamada M, Kuroiwa M. Correlation between microhardness and mineral content in sound human enamel. *Caries Res.* 1992;26(2):139-41.

Kwon YH, Shin DH, Yun DI, Heo YJ, Seol HJ, Kim HI. Effect of hydrogen peroxide on microhardness and color change of resin nanocomposites. *Am J Dent.* 2010;23(1):19-22.

Lopes GC, Bonisconi L, Baratieri LN, Vieira LCC, Monteiro Jr S. Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *J Esthet Restor Dent.* 2002;14:24-30.

Mahoney E, Holt A, Swain M, Kilpatrick N. The hardness and modulus of elasticity of primary molar teeth: an ultra-micro-indentation study. *J Dent.* 2000;28:589-94.

Malkondu Ö, Yurdagüven H, Say EC, Kazazoğlu E, Soyman M. Effect of bleaching on microhardness of esthetic restorative materials. *Oper Dent.* 2011;36(2):177-86.

Markovic L, Jordan RA, Lakota N, Gaengler P. Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching. *J Endod.* 2007 May;33(5):607-10.

Masouras K, Akhtar R, Watts DC, Silikas N. Effect of filler size and shape on local nanoindentation modulus of resin-composites. *J Mater Sci: Mater Med.* 2008;19:3561-6.

Mine A, De Munck J, Vivan Cardoso M, Van Landuyt KL, Poitevin A, Kuboki K, et al. Enamel-smear compromises bonding by mild self-etch adhesives. *J Dent. Res.* 2010;89(12):1505-9.

Mor C, Steinberg D, Dogan H, Rotstein I. Bacterial adherence to bleached surfaces of composite resin *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;86:582-6.

Mourouzis P, Koulaouzidou EA, Helvatjoglu-Antoniades M. Effect of in-office bleaching agents on physical properties of dental composite resins. *Quintessence Int.* 2013;44(4):295-302.

Navarra CO, Breschi L, Turco G, Diolosa M, Fontanive L, Manzoli L, et al. Degree of conversion of two-step etch-and-rinse adhesives: *In situ* micro-Raman analysis. *J Dent.* 2012 Sep;40(9):711-7. doi: 10.1016/j.jdent.2012.05.001.

Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J Mater.* 1992;7(6):1564-83.

Park HJ, Kwon TY, Nam SH, Kim HJ, Kim KH. Changes in bovine enamel after treatment with 30% hydrogen peroxide bleaching agent. *Dent Mater J.* 2004;23(4):517-21.

Pashley DH, Tay FR. Agressiveness of contemporary self-etching adhesives Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater.* 2001;17:430-44.

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

Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc.* 2000;66:421-6.

Qian L, Li M, Zhou Z, Yang H, Shi X. Comparison of nano-indentation hardness to microhardness. *Surface and Coatings Technology.* 2005 May;195(2-3):264-71.

Rattacaso RMB, Garcia LFR, Aguilar FG, Consani S, Pires-de-Souza FCP. Bleaching agent action on color stability surface roughness and microhardness of composites submitted to accelerated artificial aging. *Eur J Dent.* 2011;5:143-9.

Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. *Oper Dent.* 2013 Jul-Aug;38(4):E1-E25. doi: 10.2341/12-258-LIT.

Rode KM, Kawano Y, Turbino ML. Evaluation of curing light distance on composite resin microhardness and polymerization. *Oper Dent.* 2007;32(6):571-8.

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

Roubickova A, Dudek M, Comba L, Housova D, Bradna P. Effect of postoperative peroxide bleaching on the marginal seal of composite restorations bonded with self-etch adhesives. *Oper Dent.* 2013 Nov-Dec;38(6):644-54. doi: 10.2341/12-385-L.

Rueggeberg FA, Craig RG. Correlation of parameters used to estimate monomer conversion in a light-cured composite. *J Dent Res*. 1988 Jun;67(6):932-7.

Sa Y, Sun L, Wang Z, Ma X, Liang S, Xing W, et al. Effects of two in-office bleaching agents with different pH on the structure of human enamel: An *in situ* and *in vitro* study. *Oper Dent*. 2013;38(1):100-10.

Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MA. *In vitro* evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent*. 2011 Dec;39(12):841-8.

Silva Costa SX, Becker AB, Rastelli ANS, de Castro Monteiro Loffredo L, de Andrade MF, Bagnato VS. Effect of four bleaching regimens on color changes and microhardness of dental nanofilled composite. *Int J Dent*. 2009;313845. doi: 10.1155/2009/313845.

Steinberg D, Mor C, Dogan H, Zacks B, Rotstein I. Effect of salivar biofilm on the adherence of oral bacteria to bleached and non-bleached restorative materials. *Dent Mater*. 1999;15:14-20.

Suliaman M, Addy M, Macdonald E, Rees JD. A safety study *in vitro* for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent*. 2004;32:581-90.

Sun L, Liang S, Sa Y, et al. Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent*. 2011 Oct;39(10):686-92. doi: 10.1016/j.jdent.2011.07.011.

Tagami J, Nikaido T, Nakajima M, Shimada Y. Relationship between bond strength tests and other *in vitro* phenomena. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e94-9. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.156.

Takahashi A, Sato Y, Uno S, Pereira PNR, Sano H. Effects of mechanical properties of adhesives on bond strength to dentin. *Dent Mater*. 2002;18:263-8.

Ubal dini ALM, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res*. 2013 Jul;92(7):661-5.

Ushigome T, Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Influence of peroxide treatment on bovine enamel surface – Cross-sectional analysis. *Dent Mater J*. 2009;28(3):315-23.

Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, et al. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res*. 1993 Oct;72(10):1434-42.

Varanda E, do Prado M, Simão RA, Dias KRHC. Effect of in-office bleaching agents on the surface roughness and morphology of different dental composites: An AFM study. *Microsc Res Tech*. 2013;76:481-5.

Wang Y, Spencer P, Yao X, Ye Q. Effect of coinitorator and water on the photoreactivity and photo- polymerization of HEMA/camphorquinone-based reactant mixtures. *J Biomed Mater Res A*. 2006;78(4):721-8.

Wang L, Francisconi LF, Atta MT, dos Santos JR, Del Padre NC, Gonini A Jr, et al. Effect of bleaching gels on surface roughness of nanofilled composite resins. *Eur J Dent*. 2011 Apr;5(2):173-9.

Wattanapayungkul P, Yap AU. Effects of in-office bleaching products on surface finish of tooth-colored restorations. *Oper Dent*. 2003;28:15–9.

Xu B, Li Q, Wang Y. Effects of pH values of hydrogen peroxide bleaching agents on enamel surface properties. *Oper Dent*. 2011;36(5):554-62.

Yasuda G, Inage H, Kawamoto R, Shimamura Y, Takubo C, Tamura Y, et al. Changes in elastic modulus of adhesive and adhesive-infiltrated dentin during storage in water. *J Oral Sci*. 2008 Dec;50(4):481-6.

Yap AU, Tan SH, Wee SS, Lee CW, Lim EL, Zeng KY. Chemical degradation of composite restoratives. *J Oral Rehabil*. 2001 Nov;28(11):1015-21.

Yap AUJ, Wattanapayungkul P. Effects of in-office tooth whiteners on hardness of tooth-colored restoratives. *Oper Dent*. 2002;27:137-41.

Yap AU, Wang X, Wu X, Chung SM. Comparative hardness and modulus of tooth-colored restoratives: a depth-sensing microindentation study. *Biomaterials*. 2004 May;25(11):2179-85.

Yu H, Li Q, Hussain M, Wang Y. Effects of bleaching gels on the surface microhardness of tooth-colored restorative materials *in situ*. J Dent. 2008;36:261-7.

Zhou J, Hsiung LL. Depth-dependent mechanical properties of enamel by nanoindentation. J Biomed Mater Res A. 2007 Apr;81(1):66-74.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética no Uso de Animais

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo **CEUA/FOUSP N° 017/2013** referente ao projeto intitulado: **"Efeito dos agentes clareadores sobre o esmalte dental, a resina composta e a interface dente/restauração"** sob a responsabilidade de execução dos autores Profa. Dra. Miriam Lacalle Turbino e a aluna Andréa Tami Abe, foi analisado na presente data e considerado isento de análise da CEUA por utilizar dentes bovinos.

São Paulo, 19 de agosto de 2013.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Presidente do CEUA/FOUSP