ANA CAROLINA PEDREIRA DE FREITAS

Influência do tipo de polimento pós-clareamento na alteração de rugosidade, cor e brilho da superfície de esmalte dental humano

São Paulo

2010

Ana Carolina Pedreira de Freitas

Influência do tipo de polimento pós-clareamento na alteração de rugosidade, cor e brilho da superfície de esmalte dental humano

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dra. Maria Ângela Pitta Sobral

São Paulo

2010

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.

Catalogação da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Freitas, Ana Carolina Pedreira de
Influência do tipo de polimento pós-clareamento na alteração de rugosidade, cor e brilho da superfície de esmalte dental humano / Ana Carolina Pedreira de Freitas; orientador Maria Ângela Pitta Sobral. -- São Paulo, 2010.
110p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

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

1. Clareamento dentário. 2. Polimento dentário. 3. Rugosidade superficial. 4. Esmalte dentário. 5. Estética dentária. I. Sobral, Maria Ângela Pitta. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Freitas ACP. Influência do tipo de polimento pós-clareamento na alteração de rugosidade, cor e brilho da superfície de esmalte dental humano. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

São Paulo, 05/11/2010

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha família, meu pai José, minha mãe Tuca (*in memorian*) e minha irmã Tata... o bem mais precioso que tenho.

Sempre estão ao meu lado, onde quer que estejam, me dando força a cada caminhada, pois onde quer que eu vá, sei que jamais estou sozinha.

Agradeço e dedico este trabalho com todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Narciso Garone Netto, que algumas linhas não seriam suficientes para descrever seu carinho e dedicação. Agradeço sua amizade, paciência e atenção. Esta conquista é resultado do seu estímulo e apoio. Obrigada por acreditar!!

A Prof.ª Maria Ângela Pita Sobral, que sempre me recebeu com sorriso no rosto, me aconselhou e mostrou interesse não somente na minha vida acadêmica, como na minha amizade desde meu primeiro dia na faculdade.

A Prof.ª Maria Cecília Salvadori pelo tempo dedicado, pela ajuda desinteressada, e pela transmissão de tantos conhecimentos.

A Prof.ª Miriam Turbino, agradeço todo o apoio durante o Curso e sua importante colaboração na realização deste trabalho.

A Fernanda de Sá Teixeira pelo seu interesse e ajuda, extremamente importantes na execução deste trabalho.

A amiga Pati Lunardelli que, literalmente, deu volta ao mundo para que este trabalho se tornasse possível.

Ao senhor Antônio da T&M Instruments, que me recebeu de braços abertos em sua “casa”, ajudando a tornar este trabalho realidade.

Ao amigo Sérgio Brossi Botta, que se dedicou completamente não só a este trabalho, como em outros tão importantes na minha jornada acadêmica. Sua amizade e contribuição foram fundamentais.

Ao amigo Washington, que realizou a análise estatística com muito carinho e mostrou-se sempre disponível para ajudar.

A minha querida amiga Lu Espejo, que esteve sempre ao meu lado e teve a idéia de “contar bactérias”.

A todos os professores do Departamento de Dentística, pela transmissão de seus conhecimentos e pela participação na minha formação como mestre e pesquisadora.

A todos os meus colegas do Curso, pela amizade e companheirismo durante toda esta jornada.

Aos funcionários do Departamento Soninha (Reginalda), Aldo, David, Selma, Leandro, Arnaldo, Ana Maria, pela importante contribuição na realização deste trabalho.

Aos funcionários do serviço de Pós-Graduação e bibliotecárias, agradeço os serviços prestados.

A Estela que, sempre sorridente, compreendeu minha ausência e permitiu a realização deste trabalho.

Freitas ACP. Influência do tipo de polimento pós-clareamento na alteração de rugosidade, cor e brilho da superfície de esmalte dental humano. [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

RESUMO

O tratamento clareador pode resultar em alterações na rugosidade superficial do esmalte dental, as quais podem ser vistas a olho nu como alterações de cor, opacidade e perda de brilho. O objetivo deste estudo foi analisar *in vitro* a alteração de rugosidade, cor e brilho de superfícies de esmalte dental humano após clareamento com um produto a base de peróxido de hidrogênio (PH) 38% e após polimento com fluoreto de sódio 2% neutro (FS2%) ou pasta dentifrícia contendo partículas de nano-hidroxiapatita. Para isso, coroas de incisivos centrais humanos foram preparadas e tiveram suas faces vestibulares analisadas em microscópio de força atômica (MFA), o qual determinou os valores de rugosidade [Ra, RMS, *Z range* e *Power Spectral Density* (PSD)] iniciais. A cor e o brilho destas amostras foram determinados por um espectrofotômetro. Todas as amostras foram clareadas com PH 38% por 135 minutos. Os valores de Ra, RMS, *Z range* e PSD foram estabelecidos pelo MFA e a cor e o brilho determinados pelo espectrofotômetro. As amostras foram divididas em dois grupos: Flúor, que recebeu um polimento com gel de FS2%; e nHA, que recebeu um polimento com pasta dentifrícia contendo partículas de nano-hidroxiapatita. Os valores de Ra, RMS, *Z range*, PSD, cor e brilho pós-polimento foram determinados pelo MFA e espectrofotômetro. Após o clareamento, os valores de Ra, RMS, *Z range* e PSD não apresentaram alteração estatisticamente significante, os valores de L* aumentaram e C* diminuiu significativamente em todas as amostras. O brilho superficial não apresentou alteração significativa após o clareamento. O grupo Flúor não apresentou alteração de rugosidade significativa para Ra, RMS, *Z range* e PSD após o polimento. Os valores de L*, C* e brilho superficial também não apresentaram alterações significativas após o polimento das superfícies clareadas. No grupo nHA, os valores de Ra e RMS não apresentaram alteração significativa após o polimento das superfícies clareadas, porém os valores de *Z range* e PSD apresentaram alteração

estatisticamente significante. Em comparação à superfície clareada, L* e C* não apresentaram alteração significante após o polimento, porém o brilho superficial foi significativamente maior. O tratamento clareador de consultório mostrou ser eficiente quanto à alteração de cor e não gerou aumento na rugosidade superficial do esmalte dental. Um polimento com pasta dentifrícia contendo partículas de nano-hidroxiapatita realizado após o clareamento é capaz de aumentar o brilho e diminuir a rugosidade superficial do esmalte dental.

Palavras-Chave: Clareamento de dente. Rugosidade superficial. Cor. Brilho. Microscópio de força atômica. *Power Spectral Density.*

Freitas ACP. Different polishing procedures influence in roughness, color and gloss of bleached human dental enamel surface. [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2010.

ABSTRACT

Bleaching treatment may result in dental enamel surface roughness alterations, which might be seen as color alterations, opacity and gloss loss. The aim of this research was to *in vitro* investigate roughness, color and gloss alterations of human dental enamel surfaces after bleaching treatment with 38% hydrogen peroxide (HP) and after polishing with neutral 2% sodium fluoride or dental tooth paste containing nano-hydroxiapatite particles. Human central incisors were prepared and buccal surfaces were analyzed by an atomic force microscope (AFM), which determined roughness values [Ra, RMS, Z range and Power Spectral Density (PSD)]. Surface color and gloss were determined by a spectrophotometer. All samples were bleached with 38% HP for 135 minutes. AFM determined Ra, RMS, Z range and PSD after bleaching. Color and gloss were determined by the spectrophotometer. Samples were distributed in two different groups: Fluor, which was polished with neutral 2% sodium fluoride, and nHA, which was polished with dental tooth paste containing nano-hydroxyapatite particles. Ra, RMS, Z range, PSD, color and gloss values were determined by AFM and spectrophotometer after polishing. After bleaching, Ra, RMS, Z range and PSD didn't show any statistical difference. L* increased and C* decreased significantly in all samples after bleaching. Surface gloss didn't show significant alteration after bleaching. Fluor group didn't show surface roughness alteration considering Ra, RMS, Z range and PSD after polishing. L*, C* and gloss didn't change after bleached surfaces are polished with neutral 2% sodium fluoride. Ra and RMS of nHA group didn't change significantly after polishing, but Z range and PSD showed significant alteration. Despite L* and C* didn't change, gloss increased significantly after polishing with dental tooth paste containing nano-hydroxyapatite. In-office bleaching treatment showed to be efficient as for color enhancement and didn't cause roughness alteration in dental enamel surface. An after-bleaching

polishing with dental tooth paste containing nano-hydroxyapatite particles may increase gloss and decrease surface roughness of dental enamel.

Key-words: Dental bleaching. Surface roughness. Color. Gloss. Atomic force microscope. Power Spectral Density.

SUMÁRIO

p.

1 INTRODUÇÃO 11
2 REVISÃO DA LITERATURA 14
3 PROPOSIÇÃO 28
4 MATERIAL E MÉTODOS 29
4.1 Material 29
4.2 Métodos 30
5 RESULTADOS 51
5.1 Análise da alteração de rugosidade 51
5.2 Análise da alteração de cor 68
6 DISCUSSÃO 80
7 CONCLUSÕES 93
REFERÊNCIAS 95
APÊNDICES 105
ANEXOS 110

1 INTRODUÇÃO

A procura por tratamentos estéticos definitivamente aumentou nos últimos tempos, fazendo com que o clareamento se tornasse um procedimento popular. O clareamento de dentes vitais com peróxido de carbamida ou peróxido de hidrogênio, realizado pela técnica de clareamento caseiro ou pela técnica de clareamento de consultório, foi formalmente introduzido em 1989 por Haywood e Heyman, e tem atraído o interesse tanto de dentistas como de pacientes ao longo dos anos.

A proposta do clareamento dental é melhorar a estética dos dentes, e não há dúvidas em relação à efetividade do tratamento clareador (Matis et al., 2009). Estudos preliminares já investigaram a concentração dos peróxidos, o tempo e a forma de aplicação para atingir um clareamento eficiente frente a diferentes situações clínicas (Cadenaro et al., 2008). Entretanto, de acordo com alguns estudos, este tratamento pode resultar em alterações na rugosidade superficial do esmalte dental (Ernst et al., 1996; Oltu; Gürgan, 2000; Dahl; Pallesen, 2003; Lewinstein et al., 2004; Attin et al., 2004; Lee et al., 2006; Faraoni-Romano et al., 2007; Majeed et al., 2008; Dutra et al., 2009; Azer et al., 2009), as quais podem ser vistas a olho nú como alterações de cor, opacidade e perda de brilho por exemplo.

O flúor tem sido amplamente utilizado após tratamentos clareadores a fim de auxiliar na remineralização, diminuir a sensibilidade pós-operatória e devolver o brilho superficial da estrutura dental. A sua aplicação após o tratamento clareador tem sido extensamente avaliada na literatura. Um dos conceitos mais aceitos é que o tratamento com flúor, incluindo pastas dentifrícias que contêm flúor, aumenta a remineralização do esmalte após o clareamento e restaura a dureza superficial (Lewinstein et al., 2004), assim como revertem a descalcificação do esmalte até atingir o nível de calcificação existente antes do tratamento clareador (Oshiro et al., 2007; da Costa et al., 2007).

Considerando-se que possa ocorrer um aumento na rugosidade superficial do esmalte dental após o clareamento, e que a aplicação de alta concentração de flúor faz com que íons possam se depositar sobre a estrutura de esmalte, podemos pressupor que estes íons se depositariam sobre os “vales” que seriam criados no

esmalte após o clareamento. Esta deposição poderia causar uma alteração na rugosidade superficial do esmalte clareado, fazendo com que este substrato volte a apresentar a mesma lisura superficial observada antes da aplicação do produto clareador.

Estas alterações causadas na superfície do esmalte dental após tratamento clareador podem estar intimamente relacionadas à alteração de cor.

Em 1984 O'Brien et al. afirmaram que a rugosidade superficial é inversamente proporcional ao brilho e que os olhos primeiro detectam diferença no brilho entre os dentes ou entre dente e restauração, mesmo se a cor for a mesma.

O brilho não está relacionado diretamente com a cor, porém normalmente é muito difícil separar os tributos visuais de um dado objeto, e a percepção dos mesmos relacionam quase sempre a cor com o brilho e a textura. Além disso, é comprovado que o brilho mascara a cor (Lozano, 1978).

A textura da superfície determina o grau de espalhamento ou de reflexão da luz emitida sobre o dente. Clinicamente é possível observar que os procedimentos de acabamento e polimento de uma restauração, por exemplo, influenciam na aparência da cor desta restauração. Isso foi confirmado por Heintze et al. (2006). Esta textura superficial, no caso de procedimentos de clareamento, também pode influenciar no resultado estético do tratamento.

Em 2006, Takikawa et al., publicaram uma pesquisa na qual utilizaram um agente condicionador com nano-hidroxiapatita não abrasivo que foi desenvolvido e patenteado pela Sangi Co. (Japão) como hidroxiapatita médica (<mHAP>). De acordo com o fabricante, as partículas de nano-hidroxiapatita têm a capacidade de reparar fissuras microscópicas existentes na superfície de esmalte, resultando em uma superfície mais lisa e brilhante, com menor capacidade de acumular placa e pigmentos, além de fazer a reposição mineral no substrato dental.

A hidroxiapatita nanoparticulada (hidroxiapatita médica), fornecida em forma de nano cristais, é um fosfato de cálcio quimicamente semelhante à hidroxiapatita dos dentes. A hidroxiapatita nanoparticulada não se liga quimicamente à estrutura da hidroxiapatita do substrato dental, como no caso do flúor que tem tendência de se ligar com moléculas de hidrogênio formando fluorapatita; e sim restaura e mantêm a densidade mineral do esmalte devido à sua capacidade de se aderir ou se "enxertar" na estrutura de esmalte (Ambard; Mueninghoff, 2006). De acordo com o fabricante, a

aplicação deste material gera uma superfície mais brilhante, mais translúcida e menos susceptível ao acúmulo de placa.

Apesar do uso de produtos clareadores ser muito difundido, não há um consenso em relação aos efeitos dos agentes clareadores na superfície do esmalte dental tampouco da relação destes efeitos na alteração de cor dos dentes. Além disso, o efeito do tratamento pós-clareamento na alteração de cor, assim como na restauração da lisura superficial, também não é totalmente esclarecido. A aplicação de produtos clareadores e de produtos que possam restaurar possíveis efeitos deletérios na superfície de esmalte ainda requerem mais investigações.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Durante o processo de clareamento dental, o peróxido de hidrogênio decompõe-se em radicais livres denominados peridroxil e radicais de oxigênio. Estes radicais, especialmente o peridroxil, são altamente eletrofílicos e instáveis, e reagem com as moléculas orgânicas (pigmentos) para adquirir estabilidade. Quando o clareamento dental é realizado através do esmalte, ocorre a difusão do peróxido de hidrogênio por este substrato para o interior do dente, em direção à dentina. Apesar de não haver dúvidas com relação à eficiência do tratamento clareador, uma preocupação que ainda existe na classe científica é com relação a uma possível alteração nas propriedades físicas do esmalte dental.

De acordo com alguns autores, a difusão destes radicais pela estrutura dental pode causar alterações morfológicas nas estruturas mineralizadas. Estas alterações morfológicas na superfície de esmalte após tratamento clareador com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio ou peróxido de carbamida têm sido extensamente estudadas e demonstraram resultados controversos. Diversos autores como Shannon et al. (1993), Ernst et al. (1996), Bitter (1998), Hegedüs et al. (1999), Oltu e Gürgan (2000), Leonard et al. (2001), Kwon et al. (2002), observaram que as superfícies de esmalte dental sofreram alterações morfológicas após a aplicação de produtos clareadores em diferentes concentrações e por diferentes tempos.

Em uma revisão de literatura, Agostinho et al. (2003) observaram que de 22 trabalhos científicos experimentais analisados, 13 encontraram alterações significativas na morfologia superficial do esmalte; enquanto que 9 afirmam que estatisticamente o esmalte pós-clareamento não apresenta alterações significativas na sua morfologia de superfície. Os autores que observaram alterações na superfície do esmalte dental pós-clareamento, afirmam que estas podem ser observadas na forma de arranhões, debris e depressões de diferentes diâmetros e profundidades, além de apresentarem variação significativa no padrão morfológico da superfície do esmalte, desde áreas erosivas a severas alterações sem aspecto uniforme na superfície do esmalte com aumento no diâmetro e no número dos poros. Agostinho et al. (2003) afirmam que a maioria dos autores estudados concluiu que o clareamento dental promove alterações significativas na morfologia de superfície do esmalte dental e que dentre aquelas 9 pesquisas que afirmaram não haver nenhum

dano significativo à estrutura morfológica do esmalte pós-clareado, existem pontos a serem questionados.

Cavalli et al. (2004) notaram que o uso de altas concentrações de peróxido de carbamida (35 e 37%) alterou o esmalte, produzindo rugosidades na sua superfície. Da mesma maneira, diversos estudos que utilizaram microscopia eletrônica de varredura confirmaram o aumento na rugosidade da superfície de esmalte após o tratamento clareador (Potocnik et al., 2000; Akal et al., 2001), além da formação de porosidades na superfície (Yeh et al., 2005). Estes estudos contrastam com Çobankara et al. (2004) que não encontraram alterações na rugosidade e na morfologia superficiais de amostras de esmalte e dentina que foram clareadas com peróxido de carbamida 10% e 15% por um período de até 28 horas. Sulieman et al.(2004), utilizando altas concentrações de peróxido de hidrogênio para procedimentos clareadores de esmalte e dentina, não encontraram evidências de alterações na superfície destes substratos. Os autores afirmam que os estudos que reportam efeitos adversos no esmalte e dentina refletem alterações causadas pelo pH da formulação utilizada e não do clareamento em si.

Pugh et al. (2005) investigaram *in vitro* os efeitos do peróxido de hidrogênio na microdureza e morfologia do esmalte, e na penetração deste material na polpa. Para isso, foi utilizado um peróxido de carbamida 10% (equivalente ao peróxido de hidrogênio 3,5%) comparado com duas outras formulações contendo peróxido de hidrogênio 7% e 12%. Análises de microdureza, microscopia eletrônica de varredura e avaliação por microscopia de força atômica foram feitas a partir de blocos de esmalte cortados dos dentes dos grupos experimentais. Os blocos de esmalte foram analisados após 14 tratamentos de 7 horas. Em relação à morfologia do esmalte, microdureza e composição básica, não foi observada diferença estatística significante entre os grupos após 98 horas de tratamento. Com isso, os autores puderam concluir que, o peróxido de hidrogênio não tem efeitos adversos sobre a morfologia e a microdureza do esmalte.

Em uma revisão de literatura sobre os efeitos adversos e os aspectos seguros do uso do peróxido de hidrogênio para o clareamento dental, Tredwin et al. (2006) afirmaram que ocorrem alterações significantes na topografia da superfície de esmalte após o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio ou peróxido de carbamida. Altas concentrações do peróxido de carbamida causam danos à integridade da superfície de esmalte, porém menores do que os danos causados

pelo condicionamento com ácido fosfórico. Os autores também concordam que um aumento na rugosidade da superfície de esmalte pode deixar os dentes mais susceptíveis ao manchamento extrínseco após o tratamento clareador.

No ano seguinte, ao realizar uma revisão da literatura, Joiner (2007) afirmou que a maioria dos estudos indicou que a aplicação de produtos que contenham peróxido de hidrogênio ou peróxido de carbamida não apresentou efeitos deletérios sobre a morfologia superficial do esmalte e dentina, mesmo se as maiores concentrações destes produtos fossem utilizadas. O autor acredita que os poucos estudos contrastantes, que mostraram efeitos adversos, apresentam algumas limitações na sua metodologia ou utilizaram produtos/soluções extremamente ácidos. Minoux e Serfaty (2008) concordam com Joiner ao afirmarem que os produtos clareadores não induzem a alterações significativas na estrutura de esmalte e dentina humanos. Para eles, seria interessante padronizar os protocolos de tratamento a fim de comparar diretamente os reagentes empregados e identificar a susceptibilidade dos grupos pesquisados.

Para confirmar a hipótese de maior susceptibilidade ao manchamento pós-clareamento levantada por Tredwin et al. (2006), Setien et al. (2009) utilizaram um microscópio de força atômica (MFA) para verificar possíveis alterações na morfologia do esmalte dental clareado e, após o tratamento clareador realizado com peróxido de hidrogênio 35% e peróxido de carbamida 16%, fizeram um manchamento das amostras com nitrato de prata. Os autores observaram em imagens de MFA que, após o clareamento, os dentes apresentaram mais irregularidades na superfície para os dois produtos avaliados, não havendo diferença significativa entre os grupos. Além disso, os grupos experimentais apresentaram maior tendência ao manchamento após os tratamentos clareadores. Esses resultados os fizeram afirmar que, uma vez que os dentes foram clareados, o tratamento clareador precisa ser realizado rotineiramente, a fim de manter o resultado por um período maior.

Para Moraes et al. (2006), a rugosidade superficial é uma propriedade clinicamente importante, pois pode influenciar tanto na estética quanto na saúde. Diante disso, para verificar alterações na rugosidade superficial tanto do esmalte dental humano quanto de materiais restauradores, os autores utilizaram peróxido de carbamida 10% e 35%, e determinaram a rugosidade superficial com o auxílio de um perfilômetro. Neste estudo foi observado que a superfície de esmalte dental humano apresentou alterações na rugosidade superficial após a aplicação de peróxido de

carbamida 35%. A aplicação de peróxido de carbamida 10% não causou alterações estatisticamente significantes na rugosidade superficial do esmalte dental.

Já para Markovic et al. (2007), a aplicação de peróxido de carbamida 10% e 16% por 4 horas durante 7 dias, causou alterações na rugosidade superficial do esmalte dental humano quando as amostras foram observadas em microscópio confocal a laser. Os autores acreditam que em partes, estas alterações estejam associadas à interação físico-química do produto clareador com o substrato dental. Esta interação seria capaz de causar uma perda estrutural tanto no corpo dos prismas quanto na sua periferia, o que os autores afirmam ser característico de um condicionamento ácido do esmalte dental.

A fim de observar possíveis alterações nos cristais de esmalte dental causadas pelo clareamento, Ogiwara et al. (2008) utilizaram produtos clareadores a base de peróxido de carbamida 10% e peróxido de hidrogênio 35% sobre amostras de esmalte dental. As superfícies das amostras foram tratadas pelo maior tempo de tratamento possível descrito pelo fabricante de cada produto comercial (2 horas X 14 sessões, totalizando 28 horas para o peróxido de carbamida 10%; e 20 minutos X 18 sessões, totalizando 6 horas para o peróxido de hidrogênio 35%) e observadas por microradiografia de contato, microscópio eletrônico de varredura, difractômetro de raio X e microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução. A microradiografia de contato não mostrou alteração no grau de mineralização dos grupos experimentais quando comparados ao grupo controle. Na microscopia eletrônica de varredura foi possível observar “gaps” ao longo da bainha dos prismas e algumas trincas entre os cristais de esmalte clareado. A microscopia eletrônica de transmissão encontrou alterações nos cristais como áreas desmineralizadas ou aumentadas. Todas as alterações descritas neste estudo se limitaram à camada mais superficial do esmalte em todas as amostras. Estas alterações nos cristais do esmalte dental foram explicadas por Chen et al. (2006). Ao analisar pequenas partículas de esmalte dental no microscópio de força atômica após a aplicação de diferentes concentrações de flúor, os autores observaram uma considerável alteração morfológica na superfície dos cristais de esmalte. Valores de rugosidade superficial confirmaram que a aplicação de altas concentrações de flúor foi capaz de alterar a estrutura dos cristais de esmalte, resultando em um aumento da rugosidade superficial destes cristais. Os autores sugerem que esta alteração na rugosidade

tenha sido causada por uma reestruturação da superfície dos cristais de esmalte via precipitação de íons.

Em 2008, Cadenaro et al. observaram os efeitos na morfologia superficial do esmalte dental causados por produtos clareadores usados em consultório. Neste estudo, os autores analisaram réplicas obtidas com resina epóxi em um perfilômetro de não-contato e microscópio eletrônico de varredura (MEV) e observaram que não houve alteração na morfologia superficial e na rugosidade da superfície de esmalte após o tratamento clareador. Durante a revisão de literatura, os autores observaram que não há um consenso com relação às alterações morfológicas na superfície de esmalte após tratamento clareador. A maioria dos estudos encontrados pelos autores foi realizada *in vitro*, apresentando condições de teste, aspectos morfológicos iniciais e desafios mecânicos diferentes. Os autores afirmam que os diferentes resultados encontrados nas pesquisas se deve a essa diferença de metodologia empregada, que mais tarde foi confirmado por Attin et al. (2009). Para Attin et al. (2009), esta inconsistência encontrada em pesquisas que envolvem o clareamento dental se deve à diferença no delineamento dos estudos como o uso do substrato dental (humano VS. bovino), testes de microdureza (dureza Knoop VS. Vickers), condições de armazenamento entre os intervalos de clareamento (soluções não-remineralizadoras VS. saliva artificial VS. saliva humana), aplicação ou não de substâncias fluoretadas e a realização da pesquisa ser *in vitro, in vivo* ou *in situ.* Um exemplo claro da diferença de resultados observada de acordo com a metodologia utilizada foi citada por Justino et al. (2004). Nesta pesquisa, os autores observaram os efeitos adversos causados pelo clareamento com peróxido de carbamida 10% utilizado *in vitro* e *in situ.* Os autores observaram que os espécimes clareados *in situ* apresentaram microdureza estatisticamente maior do que aquela apresentada pelos espécimes clareados *in vitro*. As alterações morfológicas superficiais também foram mais pronunciadas no grupo clareado *in vitro.*

Em um estudo recente, Ushigome et al. (2009) investigaram a influência do tratamento clareador com peróxidos na morfologia transversal e nas propriedades mecânicas do esmalte dental bovino. Amostras confeccionadas a partir da face vestibular de dentes bovinos foram expostas aos peróxidos de hidrogênio e carbamida 10% ou 30% por 30 a 180 minutos. Após a imersão nestes produtos, a estrutura proveniente de uma secção transversal de cada espécime foi examinada por nanoindentação e em MEV. Os autores observaram que a nanodureza do

esmalte diminuiu a 2 microns abaixo da superfície, porém a 50 micra não foi observada nenhuma alteração na nanodureza. Além disso, altas concentrações de peróxidos causaram erosões com uma profundidade de até 5 micra da superfície. Esses resultados os fizeram concluir que a diminuição na nanodureza e alterações na morfologia superficial se limitaram a uma área menor que 50 micra abaixo da superfície, independente da concentração do peróxido ou do tempo de imersão.

Uma alta concentração de peróxido de hidrogênio também foi testada por Cadenaro et al. (2010) em uma pesquisa *in vivo*. Os autores pretendiam verificar os efeitos na rugosidade superficial do esmalte dental após a aplicação de peróxido de hidrogênio 38%. Esta é uma das maiores concentrações encontradas nos produtos clareadores, os quais apresentam um intenso efeito oxidativo possivelmente capaz de tornar este produto prejudicial ao esmalte. Porém, os resultados desta pesquisa *in vivo* indicaram que este produto, aplicado uma vez por semana durante quatro semanas, não causou alterações significativas na rugosidade superficial do esmalte dental. Este resultado foi de acordo com Pedreira de Freitas et al. (2010) que, também testando um peróxido de hidrogênio altamente concentrado, verificaram em um microscópio de força atômica, que não houve diferença estatística entre os valores de rugosidade (Ra e RMS) antes e após o tratamento clareador. Apesar deste resultado, os autores afirmam que o microscópio de força atômica é uma ferramenta valiosa para avaliar a superfície do substrato dental, e o uso de recursos deste microscópio, como o Power Spectral Density (PSD), é capaz de fazer distinção entre a superfície de esmalte dental clareado e não-clareado. Esta afirmação vai de acordo com Skolnik et al. (2000) que explicam que o PSD é uma técnica que calcula qual é a contribuição de cada comprimento de onda morfológico que caracteriza a imagem da superfície. Os autores ainda explicam que, quando dois cálculos de PSD são comparados, o eixo *x* é a função do comprimento de onda morfológico e o eixo *y* é a intensidade que este comprimento de onda aparece em escala logarítmica. Com esta técnica é possível visualizar quais comprimentos de onda morfológicos contribuem mais em uma imagem. Sendo assim, a análise de PSD é uma ferramenta mais sensível para quantificar a topografia superficial do que os padrões de rugosidade Ra e RMS que são normalmente empregados. Gavrila et al. (2007) afirmam que, para superfícies ópticas, a função PSD é especialmente importante, pois representa uma maneira muito popular de descrever a qualidade da

superfície visto que esta está diretamente ligada com a quantidade e a maneira que a luz será espalhada.

Para Fang et al. (1997), a rugosidade superficial pode ter diversos efeitos nas propriedades de um objeto dependendo do comprimento de onda morfológico presente na superfície. Isso inclui desde a rugosidade superficial em nível atômico até comprimentos de onda maiores. A metodologia do PSD também oferece a representação da periodicidade espacial e a amplitude da rugosidade. Os autores descrevem que as imagens de MFA podem ser representadas por PSD, o qual decompõe a rugosidade superficial em freqüências com diferentes comprimentos de onda morfológicos.

Ao analisar superfícies de dentina em um MFA utilizando o recurso do PSD, Feninat et al. (2001) afirmaram que, com os resultados obtidos, podem ser observados parâmetros topográficos e características do perfil de rugosidade da superfície como um todo e não apenas em um eixo. Isso torna o MFA uma ferramenta valiosa que fornece informações quantitativas não apenas do desvio de altura do perfil topográfico, mas também a sua distribuição lateral (a extensão espacial das variações de altura do perfil superficial). Sendo assim, a análise realizada pelo PSD oferece uma descrição mais ampla e precisa do que apenas os parâmetros de rugosidade mais utilizados.

Em uma recente revisão de literatura, Goldberg et al. (2010) afirmam que, no que se refere a alterações na superfície de esmalte após tratamento clareador, a literatura é controversa. Nesta revisão de literatura é possível observar que alguns autores relatam não haver alterações na superfície de esmalte, enquanto outros mostraram alterações superficiais que variaram de moderada a severa. Porém Goldberg et al. (2010) afirmam que, diante da literatura publicada, é possível concluir que o tratamento clareador induz a alterações na rugosidade superficial do esmalte dental e conseqüentemente influencia na formação de placa supra e sub-gengival. Apesar disso, os autores reconhecem que até agora, não há nenhum relato de caso clínico demonstrando o potencial de desenvolvimento de cárie causado por tratamento clareador.

Alterações na rugosidade superficial após o tratamento clareador também foram confirmadas por Martin et al. (2010). Para contornar estas alterações, os autores aplicaram flúor sobre amostras de esmalte clareadas com peróxido de carbamida 16% ou peróxido de hidrogênio 35%. Aplicando flúor sobre amostras de

esmalte clareado, os autores procuraram determinar qual técnica de aplicação de flúor seria mais eficiente para proteger o esmalte destas alterações na rugosidade superficial causadas pelo clareamento. Após a análise em um perfilômetro e em microscópio eletrônico de varredura, os autores observaram que o aumento na rugosidade superficial após o clareamento só foi minimizado pela aplicação de fluoreto de sódio 2% neutro, que apresentou a menor porcentagem de alterações na rugosidade em relação ao esmalte hígido, quando comparado com os espécimes que foram clareados e não foram expostos a nenhum tipo de aplicação de flúor. Os autores afirmam que este resultado pode ter sido observado porque a alta concentração de fluoreto contida no gel de fluoreto de sódio 2% provavelmente induziu à formação de uma camada de fluoreto de cálcio na superfície de esmalte, que permitiu a difusão dos íons fluoreto e a conseqüente remineralização do esmalte dental clareado. Esta pesquisa está de acordo com Attin et al. (1997) que, ao avaliar a capacidade de remineralização do esmalte clareado com diferentes tratamentos com flúor, observaram que os grupos que receberam aplicação de altas concentrações de flúor após o clareamento apresentaram capacidade de remineralização maior quando comparado aos grupos que não receberam flúor após o clareamento.

Além de terem sido observadas por alguns autores alterações na morfologia superficial do esmalte dental, a microdureza do esmalte também é afetada imediatamente após sessões de clareamento de consultório onde altas concentrações de peróxido de hidrogênio são utilizadas (Attin et al., 2009; Azer et al., 2009); porém os valores de dureza iniciais foram restaurados após a aplicação de fluoretos (Attin et al., 2005; Attin et al., 2009; Basting et al., 2003; Borges et al., 2010; Leandro et al., 2008; Lewinstein et al., 2004; Oshiro et al., 2007; Rodrigues et al., 2005; Ulukapi et al., 2007).

A aplicação de flúor após o clareamento tem sido extensamente avaliada na literatura. Normalmente os estudos relatam que os tratamentos com flúor, incluindo o uso de pastas dentifrícias com flúor, aumentam a remineralização do esmalte dental após o clareamento, contribuem na reparação de defeitos microestruturais (Leandro et al., 2008; Wiegand et al., 2007) e restauram a dureza superficial (Lewinstein et al., 2004), assim como revertem a descalcificação atingindo níveis pré-clareamento (da Costa; Mazur, 2007; Oshiro et al., 2007). O uso regular de pastas fluoretadas mostrou-se suficiente para evitar a perda da microdureza do esmalte durante o

clareamento, sem a necessidade de tratamentos com flúor adicionais. Esta remineralização é atribuída à incorporação do flúor na superfície dos dentes, formando uma película rica em fluoreto de cálcio (Arnold et al., 2006; Wiegand et al., 2007). A aplicação tópica de flúor também foi recomendada por Yeh et al. (2005) para evitar possíveis efeitos adversos causados pelo clareamento, como o aumento na porosidade superficial do esmalte dental que eles observaram após tratamento com peróxido de carbamida 10%.

Os efeitos da aplicação tópica de fluoreto de sódio 2% neutro na topografia superficial do esmalte dental vêm sendo relatados na literatura há algum tempo (Christoffersen et al., 1988; Cruz; Rölla, 1991; Cruz et al., 1992; Nelson et al., 1983; Saxegaard; Rölla, 1988). Normalmente, os resultados destas pesquisas indicam que o produto principal do tratamento com flúor são depósitos de fluoreto de cálcio e que estes depósitos se perdem da superfície após certo período de tempo. Análises químicas sugerem que estes depósitos são sais de fluoreto de cálcio que contém fosfato.

Jeng et al., em 2008, fizeram uma análise em MFA da topografia superficial do esmalte dental após a aplicação de fluoreto de sódio 2% neutro por 4 minutos. Os depósitos formados sobre a superfície de esmalte, decorrentes da aplicação de flúor, fizeram com que a morfologia superficial apresentasse estruturas descritas como “montanhas” pelos autores. Estes depósitos mostraram-se passíveis de desgaste ou perda após dias ou semanas da aplicação tópica de flúor como conseqüência da escovação ou mastigação. Porém, os dados apresentados nesta pesquisa mostraram que, após os depósitos serem removidos da superfície, a rugosidade superficial do esmalte retornou a valores próximos aos originais apesar de a camada de esmalte ainda apresentar um aumento de 22% no conteúdo de flúor. Desta maneira, este estudo demonstrou a efetividade do tratamento com fluoreto de sódio 2% neutro.

Enquanto a aplicação de fluoretos sobre o esmalte tem um intenso efeito na redução da solubilidade dos cristais de esmalte e no crescimento destes cristais, o efeito dos fluoretos na estrutura do cristal e na química da superfície ainda não é bem esclarecido (Robinson et al., 2006). Devido à capacidade dos fluoretos de interagir tanto com a fase mineral como com as macromoléculas orgânicas dos tecidos mineralizados, os fluoretos também podem agir como “formadores de estrutura” em ambiente úmido (Robinson et al., 2004).

Nos últimos anos, estudos realizados com pastas dentifrícias contendo nanopartículas de hidroxiapatita vêm sendo relatados na literatura devido à sua biocompatibilidade. A hidroxiapatita, assim como nos ossos, é responsável pelo comportamento mecânico dos tecidos dentais. Nanocristais de hidroxiapatita, além das excelentes propriedades biológicas como atoxicidade e participação em respostas inflamatórias e imunológicas, apresentam propriedades de bioreabsorção sob condições fisiológicas sendo capazes de promover osteocondução e osseointegração (Ambard; Mueninghoff, 2006). Devido às novas tecnologias capazes de reduzir os cristais de hidroxiapatita a tamanhos nanométricos, a hidroxiapatita tem se mostrado capaz de interagir com tecidos biológicos (Palazzo et al., 2007). Alguns autores relatam que o poder de remineralização e fixação das partículas de hidroxiapatita é maior quando as partículas são reduzidas a tamanhos nanométricos pois a interação das nanopartículas com a dentina e o esmalte mostram-se mais eficientes, devido ao aumento da superfície de contato em razão ao volume (Kim et al., 2006; Lv et al., 2007). Yamagishi et al., 2005, descrevem estes materiais com nanopartículas de hidroxiapatita como materiais com efeito remineralizador sobre a superfície de esmalte alterada, ajudando a recobrir microfraturas e remineralizando lesões de cárie iniciais.

A hidroxiapatita sintética mimetiza a composição, a estrutura, a morfologia e as nano-dimensões da apatita de esmalte natural (Generosi et al., 2010). Foi descoberto que as partículas de hidroxiapatita em tamanhos nanométricos podem se aderir quimicamente à superfície de esmalte natural, produzindo uma camada de cobertura persistente, que preenche ranhuras e poros, graças ao seu tamanho reduzido, que recobrem e protegem a estrutura de esmalte (Roveri et al., 2008; Yamagishi et al., 2005). Roveri et al. (2009), ao compararem o processo remineralizador de pastas dentifrícias contendo fluoreto ou nanocristais de hidroxiapatita em superfícies de esmalte previamente descalcificadas, afirmam que os nanocristais são capazes de gerar a remineralização do esmalte através da formação de uma cobertura de apatita que é menos cristalina que a apatita do esmalte natural, mas que se deposita dentro das áreas desmineralizadas da superfície de esmalte podendo ser considerada uma técnica inovadora para o tratamento da desmineralização.

A hidroxiapatita também tem sido adicionada a cremes dentais como agente de polimento e clareamento. Foi demonstrado por Niwa et al. (2001) que pastas

contendo hidroxiapatita aumentaram a claridade dos dentes após 2 semanas de uso. Para estes autores, considerando que a brancura e a claridade dependem do grau de reflexão de luz, a lisura superficial aumentou essa reflexão de luz. Para eles, o mecanismo de aumento de claridade e brancura causado pelo uso da pasta com hidroxiapatita pode ser explicado pelo efeito remineralizador deste produto. Segundo os autores, a remineralização pode tornar a superfície do dente mais lisa e brilhante.

Apesar de o efeito remineralizador não ser confirmado por Kim et al. (2006), estes autores concordam com Niwa et al. (2001), pois afirmam que pastas contendo nanopartículas de hidroxiapatita são capazes de aumentar significativamente a claridade dos dentes após escovação. Para eles, estes efeitos são causados pelas propriedades físicas da nano-hidroxiapatita, que tem uma maior área de superfície quando comparadas às micropartículas de hidroxiapatita e são capazes de preencher os poros da superfície dos dentes aumentando a lisura superficial.

Em um estudo realizado em 2004, Kawamata et al. utilizaram um produto a base de hidroxiapatita ultrafina para restaurar a superfície de esmalte após o clareamento dental. Para isso, as amostras foram polidas após o clareamento com este produto e analisadas em microscópio eletrônico de varredura. Os autores observaram que após o clareamento, a superfície do esmalte se tornou mais rugosa e que, após o polimento com o agente a base de hidroxiapatita, o esmalte restaurou a lisura superficial observada antes do clareamento. Meng et al.(2005) também observaram a deposição de uma camada de nanopartículas de hidroxiapatita sobre o esmalte dental, a qual foi capaz de diminuir o espaço interprismático do esmalte previamente desmineralizado.

Nishio et al. (2006) demonstraram que o uso de um produto contendo nanopartículas de hidroxiapatita após o tratamento clareador é capaz de restaurar a lisura superficial do esmalte dental e inibir a reincidência do manchamento extrínseco.

Mohd-Janurudin et al. (2007) analisaram diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio com ou sem micropartículas de hidroxiapatita na sua composição quanto à efetividade do clareamento e aderência destas partículas ao substrato dental. Nesta pesquisa, os autores demonstraram que o peróxido de hidrogênio, quando aplicado sozinho às amostras de dente, teve menor efeito clareador quando comparado à solução de peróxido de hidrogênio e hidroxiapatita. O grupo tratado apenas com hidroxiapatita também apresentou aumento na

claridade em relação ao grupo controle. Em imagens de MEV os autores observaram que o peróxido de hidrogênio, quando utilizado sozinho, afetou a superfície de esmalte criando crateras na superfície. Estas crateras apresentaram-se mais profundas e rugosas quanto maior a concentração do peróxido de hidrogênio. Nos grupos que continham partículas de hidroxiapatita misturadas ao peróxido de hidrogênio, as partículas encontraram-se aderidas ao redor e dentro das crateras, ao redor das periquimácias, preenchendo as crateras. Com este resultado, os autores afirmaram que as partículas de hidroxiapatita podem servir como um material substituto aos danos causados no esmalte.

Em 2008, Jiang et al. avaliaram se a combinação de hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio poderiam levar a um maior efeito clareador e reduzir a desmineralização causada pelo peróxido de hidrogênio quando utilizado sozinho. A cor das amostras foi observada em um espectrofotômetro. Um microdurômetro e um microscópio eletrônico de varredura foram utilizados para a avaliação da microdureza e alteração morfológica superficial, respectivamente. Neste estudo, os autores observaram que o efeito clareador causado pelo grupo em que foi utilizado hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio foi semelhante ao clareamento observado no grupo em que o peróxido de hidrogênio foi utilizado sozinho. O grupo no qual a hidroxiapatita foi utilizada com água destilada não apresentou nenhum efeito clareador. Desta maneira, os autores afirmam que o efeito clareador observado nos grupos experimentais é atribuído principalmente ao peróxido de hidrogênio. Os autores observaram também que a combinação de hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio é capaz de reduzir significativamente a perda de microdureza superficial do esmalte e manter a morfologia superficial praticamente inalterada.

Em contrapartida, em um estudo realizado por Dabanoglu et al. (2009), foi observado que, após a imersão de amostras de dentes humanos em 3 diferentes suspensões de nano-hidroxiapatita ou misturas que continham filmes solúveis de nano-hidroxiapatita, as partículas mantiveram-se aderidas à estrutura de esmalte dental, mesmo após a aplicação de uma força hidrodinâmica gerada por uma escova dental sônica. Os grupos que apresentaram as partículas de hidroxiapatita aderidas à sua superfície mostraram uma alteração de cor em relação à situação original. Quanto maior o número de aplicações das soluções contendo nano-hidroxiapatita, maior a alteração de cor (ΔE) observada. Os autores afirmam que, por se tratar de um material branco, esta fina camada de nano-hidroxiapatita que

fica aderida à superfície dos dentes é capaz de gerar um efeito clareador no substrato dental.

Em 2006, Takikawa et al., avaliaram o efeito de um material contendo nanopartículas de hidroxiapatita na superfície de esmalte pós-tratamento clareador, especialmente no brilho superficial do esmalte. Com o auxílio de um analisador de brilho, amostras de dente foram avaliadas antes e após o tratamento clareador; e após a aplicação de um produto com partículas de nano-hidroxiapatita (Renamel®, Sangi) ou de um gel de fluoreto de sódio (950ppm). Os autores observaram que a rugosidade superficial das amostras aumentou e o brilho diminuiu após o clareamento em todas as amostras. Porém a rugosidade diminuiu e o brilho aumentou significativamente no grupo que foi tratado com o produto com nano-hidroxiapatita após o clareamento quando comparado ao grupo tratado com flúor após o clareamento.

Para Kakaboura et al. (2007), uma superfície brilhante e perfeitamente lisa é um pré-requisito para se atingir a aparência estética desejada, e esta aparência precisa ser mantida por um longo período na cavidade oral. A superfície lisa, além de melhorar o resultado estético, previne a formação de um biofilme pigmentado e a retenção de placa devido à ausência de micro-rugosidades.

O brilho é um critério normalmente utilizado para avaliar as características da superfície de um material e tem um efeito significante na percepção da cor dos objetos. Os materiais foscos parecem ser menos intensamente coloridos, menos saturados e com maior claridade do que um material correspondente brilhante (Dalal; Natale-Hoffman, 1999). A sensação de brilho é influenciada por diversos fatores, dentre eles: características da superfície, tipo de iluminação e observador (Yalcin e Gürgan, 2005).

Makarenko e Shaykevich, (2000) também afirmam que a brancura de um objeto é dependente da sua rugosidade superficial. Nestes casos, esta dependência é observada apenas quando o componente especular da luz emitida também é considerado. Além disso, afirmam que as coordenadas de cor independem da rugosidade superficial.

Apesar de Boeckler (1995) estar de acordo com Makarenko e Shaykevich (2000), ao demonstrar que cor e brilho são aspectos separados na aparência dos objetos, o autor afirma que a primeira impressão de um objeto é fortemente influenciada pela qualidade da superfície, e que os efeitos de brilho são baseados

na interação da luz com as propriedades físicas deste objeto (tipo de material, topografia da superfície, grau de transparência e substrato). Isso foi confirmado por Heintze et al. (2006) que testaram diversos materiais restauradores quanto ao polimento e alteração na rugosidade superficial. Ao término desta pesquisa, os autores afirmaram que o brilho e a rugosidade mostraram-se intimamente associados sendo inversamente correlacionados, o que esteve de acordo com a pesquisa de Paravina et al. (2004). Paravina et al. (2004), observaram o brilho em um glossímetro, a rugosidade superficial em um perfilômetro, e verificaram a alteração de cor das amostras após o polimento com um espectrofotômetro. Com esta pesquisa, os autores afirmaram que a diferença de cor observada após o polimento foi considerada insignificante, principalmente do ponto de vista clínico; porém as amostras apresentaram grande alteração no brilho e na rugosidade superficiais, de acordo com o sistema de polimento utilizado.

Para Fondriest (2003), a aparência dos dentes é determinada principalmente pela maneira que a luz interage com as superfícies curvas e com morfologias variadas. Para ele, depois de forma, a textura superficial é o parâmetro mais importante na determinação da cor; pois afeta a maneira que a luz irá interagir com a superfície do dente, e conseqüentemente na qualidade e quantidade de luz que retorna aos olhos do observador. O autor explica que um observador precisa estar muito perto de uma pessoa para detectar uma pequena diferença no croma, porém uma diferença na morfologia superficial ou na claridade podem ser percebidas a pouco mais de um metro e meio de distância.

Todos os aspectos descritos anteriormente envolvem o resultado que será observado após um tratamento clareador. Precisamos ressaltar que o poder remineralizador e protetor da saliva são capazes de superar os efeitos deletérios do clareamento *in vivo*. E não há estudos clínicos ou relatos de casos na literatura que documentem danos macroscópicos causados pelo clareamento de dentes vitais. Porém, é necessário minimizar os riscos, por menor que sejam os danos causados pelos agentes clareadores; e melhorar o aspecto final de um tratamento estético. Com essa finalidade, precisamos investigar os benefícios que podem ser alcançados com manobras clínicas e materiais disponíveis no mercado.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi realizar o clareamento da superfície de esmalte de incisivos permanentes humanos com um produto clareador (peróxido de hidrogênio 38%) e o posterior polimento com diferentes produtos (gel de fluoreto de sódio 2% neutro e pasta dentifrícia contendo nanohidroxiapatita) para:

1. avaliar a rugosidade superficial do esmalte antes e após o tratamento clareador e após os dois tipos de polimento;
2. avaliar a alteração de cor e brilho do esmalte antes e após o tratamento clareador e após os dois tipos de polimento;
3. avaliar a correlação entre a rugosidade superficial, a cor e o brilho do esmalte clareado e polido nos três tempos experimentais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

- Aparelho de luz LED Radii (SDI, Austrália)
- Geladeira (Cônsul, Brasil) – Projeto FAPESP: 02/02003-3
- Politriz AutoMet 3 COM Ecomet 6 (Buehler, EUA) Projeto FAPESP 03/112182-4
- Microscópio de Força Atômica NanoScope IIIa Multimode (Veeco Instruments, USA)- Projeto FAPESP: 95/5651-0
- Microscópio Óptico SZ (Olympus, Japão)
- Espectrofotômetro CM-2600d (Konica Minolta, Japão)
- Ultra-som CD-4820 (Kondortech, Brasil)
- Paralelômetro

4.1.2 Instrumental e Material

- Ácido fosfórico 37% - FGM Produtos Odontológicos Ltda. – Joinville – SC-Brasil
- Água destilada –Sidepal – Guarulhos – SP - Brasil
- Aplicadores descartáveis KG Brush – KG Sorensen Indústria e Comércio Ltda. – Barueri – SP - Brasil
- Caneta de baixa rotação N270 – Dabi-Atlante – Brasil
- Seringa endo a vácuo Luer Vaccum para aspiração – Ultradent Products Inc. - EUA
- Cera utilidade Horus – Dentsply Herpo – Petrópolis – RJ - Brasil

- Cone de papel absorvente Pro Taper Universal – Dentsply – EUA
- Contra-ângulo Intra Lock - Dabi-Atlante- Brasil
- Cureta manual n°17- Duflex - Brasil
- Curetas periodontais - Hu-Friedy- Chicago – EUA
- Detergente aniônico Tergensol – Inodon - Brasil
- Disco de Carburundum – Dentorium- EUA
- Discos de feltro flexíveis Diamond Flex- FGM- Brasil
- Discos de lixa Ecomet granulação 120 –Buehler- EUA
- Espessímetro – Golgran - Brasil
- Flúor Gel Neutro Flugel – DFL- Brasil
- Gel Clareador Opalescence® Boost™ PF – Ultradent – EUA
- Lima endodôntica Flex n°70 – Dentsply Maillefer – EUA
- Líquido de Dakin – Asfer – São Caetano do Sul - Brasil
- Massa plástica para modelar – Faber Castel - Brasil
- Pasta Apagard Premio com Nano<mHAP>- Sangi – Japão
- Peça reta Intra-Lock – Dabi-Atlante - Brasil
- Pedra-pomes – SSWhite – Rio de Janeiro – Brasil
- Pinça clínica – Duflex- Brasil
- Placa de vidro
- Resina Composta Z250 cor A3 – 3M ESPE- USA
- Seringa descartável 20ml – BD Solomed™ - Brasil
- Sistema adesivo Adper™ Single Bond 2 – 3M ESPE – USA
- Solução Balanceada de Hanks
- Taça de borracha – Preven - Brasil
- Tubo de PVC – Tigre- Brasil

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo das amostras

Neste estudo foram utilizados dezoito incisivos superiores humanos. Os dentes foram obtidos através do Banco de Dentes Humanos que pertence à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com o parecer de aprovação FR 297726 Protocolo 142/2009 (Anexo A). Para esta pesquisa, foram selecionados dentes que apresentavam coroas hígidas, sem nenhum tipo de restauração ou cavidade gerada por um processo carioso. Os mesmos foram limpos com cureta periodontal para remoção de indutos e resíduos orgânicos e foi realizada uma profilaxia com taça de borracha acoplada a um contra-ângulo, pedra-pomes e água. Os dentes limpos foram examinados em microscópio óptico com aumento de 40 vezes para visualização da ausência de trincas ou fissuras na superfície de suas coroas clínicas. Em caso da presença de trincas ou fissuras, os dentes eram descartados. Os dentes selecionados foram conservados em água destilada, em geladeira a 4°C até o início do experimento.

As raízes foram separadas das coroas com o auxílio de um disco de carborundum montado em mandril para peça reta em baixa rotação, sempre sob refrigeração com água corrente. O tecido pulpar da porção coronária foi removido com o auxílio de uma cureta manual n°17. A câmara pulpar foi limpa com lima endodôntica e irrigada com líquido de Dakin para completar a limpeza. Em seguida, a cavidade foi seca com bolinha de algodão e cones de papel.

A face palatina das amostras foi lixada na politriz com um disco de lixa de granulação grossa n°120, a fim de reduzir o diâmetro vestíbulo-lingual para 5 mm sem alterar a face vestibular da amostra (Figura 4.1).

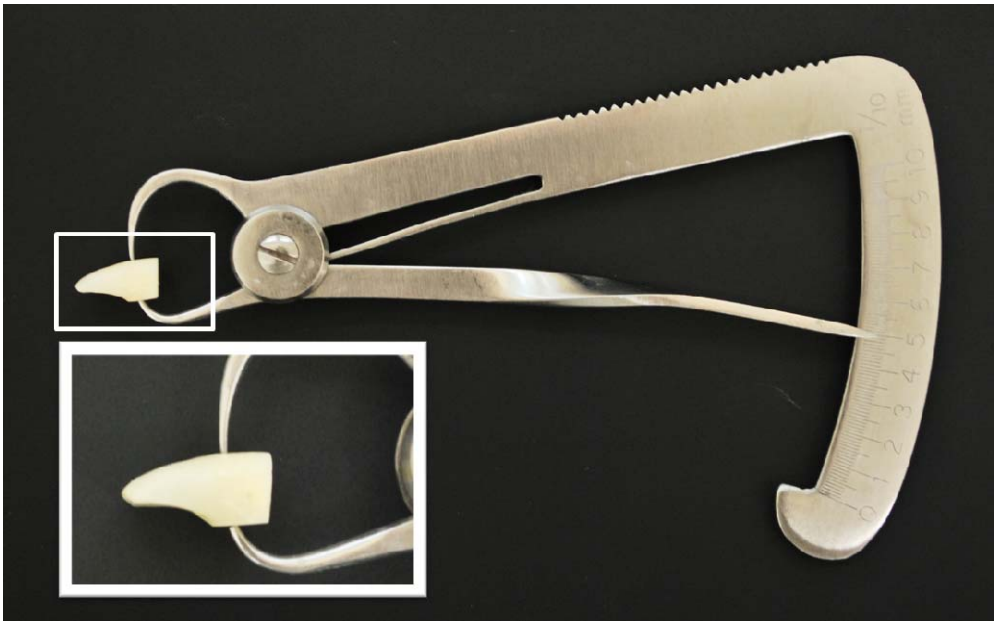

Figura 4.1- Após o desgaste na face palatina da amostra, obteve-se uma espessura de 5 mm no sentido vestíbulo-lingual. No detalhe é possível verificar que a face vestibular não foi afetada

O orifício de acesso à câmara pulpar das amostras foi preenchido com uma resina composta na cor A3. Para isso, foi realizado um condicionamento com ácido fosfórico 37% por 10 segundos ao redor deste orifício. O excesso de gel foi removido com uma bolinha de algodão, a amostra foi lavada com spray ar/água proveniente de uma seringa tríplice e seca com leves jatos de ar. O sistema adesivo Adper™ Single Bond 2 foi aplicado com um aplicador *microbrush* de acordo com as especificações do fabricante e fotoativado por uma fonte de luz LED por 20 segundos. Uma segunda camada do sistema adesivo foi aplicada da mesma maneira já descrita e fotoativada por 20 segundos. Uma porção de resina composta foi inserida no orifício de acesso à câmara pulpar a fim de obliterá-la completamente e foi fotoativada por 20 segundos (Figura 4.2). Esta manobra foi realizada para que, durante a determinação da cor da amostra em espectrofotômetro, não houvesse interferência na leitura de cor causada pela entrada de luz por este orifício.

A superfície de esmalte das amostras foi limpa com uma bolinha de algodão embebida em detergente aniônico Tergensol a qual foi friccionada sobre a superfície de esmalte com o auxílio de uma pinça clínica por 30 segundos. As amostras foram lavadas com água destilada e levadas ao banho em ultra-som para a remoção total de resíduos que pudessem ter permanecido na superfície das amostras. Foram

realizados 3 banhos de 10 minutos cada um, em água destilada, sendo que a água foi trocada entre cada banho.

Figura 4.2- Amostra pronta para a realização do experimento

As dezoito amostras permaneceram acondicionadas em frascos individuais devidamente identificados contendo 3 ml em cada frasco de Solução Balanceada de Hanks (HBSS). O HBSS é uma mistura de sais enriquecida com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular. Este meio tem a vantagem de se manter estável por mais de 24 meses, se conservado bem fechado, em geladeira. Esta solução contém: 400 mg/l KCl, 60 mg/l KH_2PO_4, 8000 mg/l NaCl, 1000 mg/l glicose, 90 mg/l $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, 350 mg/l $NaHCO_3$, 140 mg/l $CaCl_2$, 100 mg/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e 100 mg/l $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ e pH 7,4 ± 0,5. As amostras foram mantidas em geladeira a 4°C até o início do experimento.

Esta armazenagem foi determinada de acordo com Habelitz et al. (2001) que, em um estudo no qual realizaram nanoindentações com um microscópio de força atômica, verificaram que o armazenamento de dentes em água deionizada ou solução de $CaCl_2$ resultou em uma grande diminuição no módulo de elasticidade e na nanodureza da superfície dos dentes. Em apenas 1 dia de armazenamento houve uma diminuição de até 20% e 30% nas propriedades mecânicas do esmalte e da dentina respectivamente. Estas alterações nas propriedades mecânicas foram atribuídas a um processo de desmineralização que ocorreu durante o período de armazenamento em água deionizada e solução de $CaCl_2$. Em contrapartida, o armazenamento dos dentes em HBSS não alterou as propriedades mecânicas por

um período de até 2 semanas. Desta maneira, a fim de manter as propriedades físicas do tecido dental, os autores recomendam o armazenamento das amostras em HBSS.

4.2.2 Determinação dos valores iniciais de rugosidade

Para a determinação da rugosidade superficial, perfil morfológico e imagem qualitativa da superfície de esmalte vestibular das amostras, foi utilizado o Microscópio de Força Atômica (MFA) modelo Nanoscope IIIa Multimode (Figura 4.3A), instalado no Laboratório de Filmes Finos (IFUSP).

Nesta modalidade de microscopia, uma sonda muito fina com ponta piramidal presa à extremidade de um *cantilever* varre a superfície da amostra enquanto a interação entre sonda e amostra é monitorado (Figura 4.3B). Neste caso, a interação que ocorre entre ponta e superfície é a força atômica de Van der Waals. Quando a ponta é colocada em contato com a superfície, ela sofre uma força atômica repulsiva, a qual deflete o *cantilever*. Esta deflexão que deve ser mantida constante é monitorada através de um feixe de laser refletido na extremidade do *cantilever* e incidente em um conjunto de fotodiodos. Durante a varredura a ponta passa por pontos de alturas diferentes (determinando x, y, z) compondo a topografia da região varrida.

Este equipamento operou à temperatura ambiente e umidade controlada, com ponta de silício no modo contato.

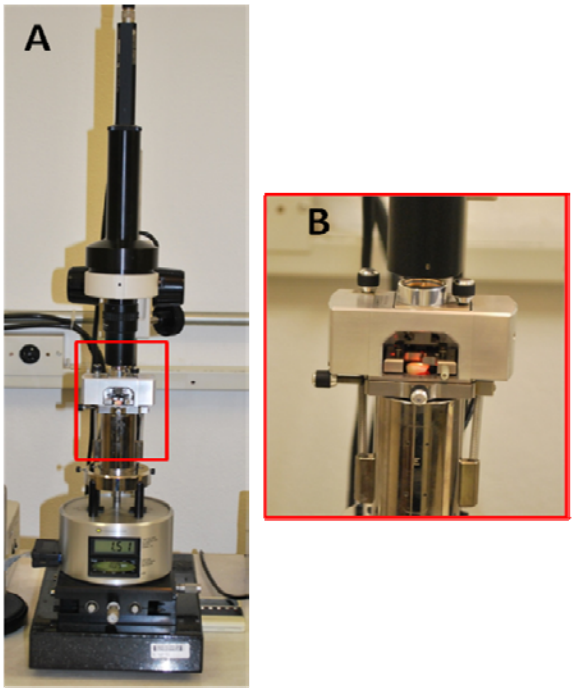

Figura 4.3- A: Microscópio de Força Atômica (MFA) Nanoscope IIIa Multimode AFM.
B: posicionamento da amostra sob a ponta ativa do microscópio

Para a realização deste procedimento, apenas 8 amostras foram selecionadas e todas elas estavam devidamente identificadas.

A amostra era posicionada em uma pequena placa metálica esférica (componente do MFA) e, com o auxílio de massa plástica para modelar e um paralelômetro, a face vestibular era posicionada paralela ao plano horizontal.

Uma área central da face vestibular das amostras foi determinada e posicionada sob a ponta de silício do MFA. Em um monitor era possível verificar a imagem da superfície com 500X de aumento. A partir desta imagem gerada pelo monitor, uma pequena região era selecionada para que se iniciasse o escaneamento. A leitura da superfície de esmalte foi realizada em janela de 10µmX10µm com velocidade de leitura de 1Hz, 512 X 512 pontos (Figura 4.4).

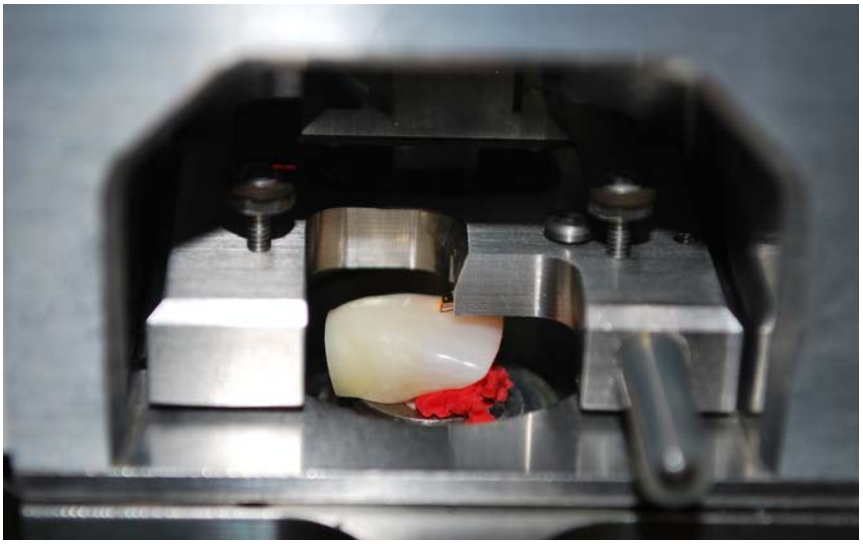

Figura 4.4- Amostra sendo escaneada pela ponta de silício do MFA

As oito amostras foram analisadas no MFA e as imagens geradas proporcionaram uma análise da rugosidade, na qual foram obtidos os valores de Ra, RMS e *Z range*.

O valor de Ra corresponde à média aritmética dos valores absolutos das diferenças de altura da superfície que está sendo observada na imagem, ou seja, é a média da distância entre a superfície e a linha média, observando todos os pontos ao longo do perfil (Figura 4.5). No caso do Ra, os picos e vales são “tratados” da mesma maneira.

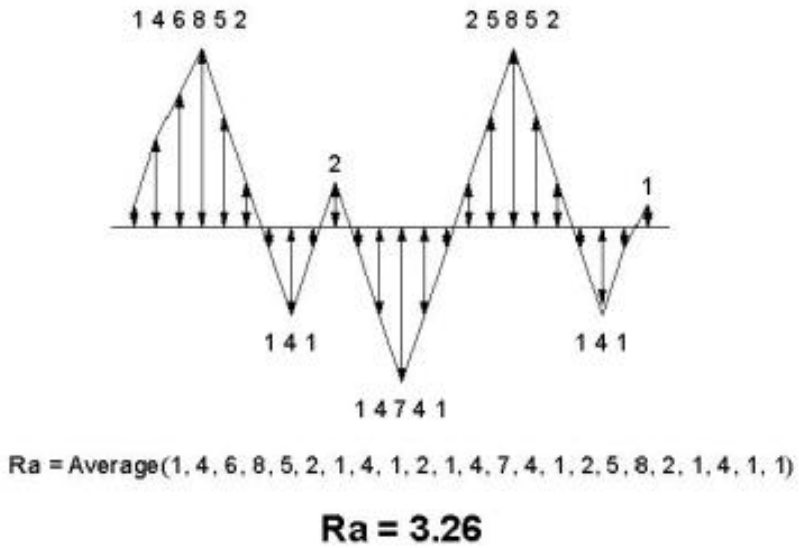

Figura 4.5- Exemplo de representação gráfica da determinação de Ra

O RMS é o valor médio quadrático de todos os desvios do perfil de rugosidade da reta média dentro do comprimento de medição (Figura 4.6) e é calculado:

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum (Z_i)^2}{n}},$$

onde Z_i é o valor de Z do dado momento, e "n" é o número de pontos de determinada imagem.

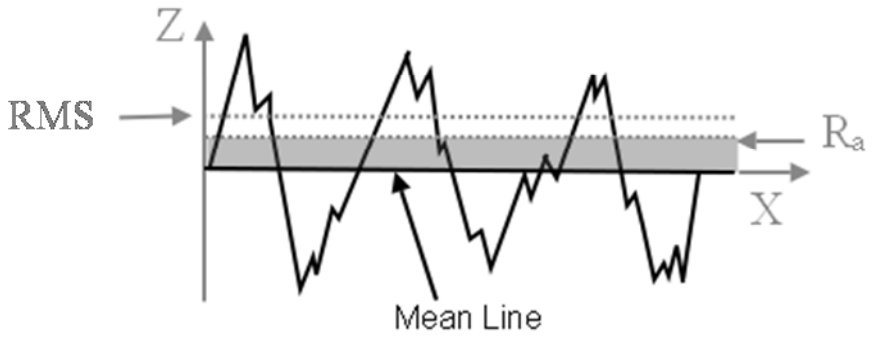

Figura 4.6- Representação gráfica da determinação de RMS e sua diferença em relação ao Ra

O *Z range* é a diferença pico-vale nos valores de altura da região analisada, ou seja, é a diferença de altura que existe entre o ponto mais baixo e o ponto mais alto da imagem analisada (Figura 4.7).

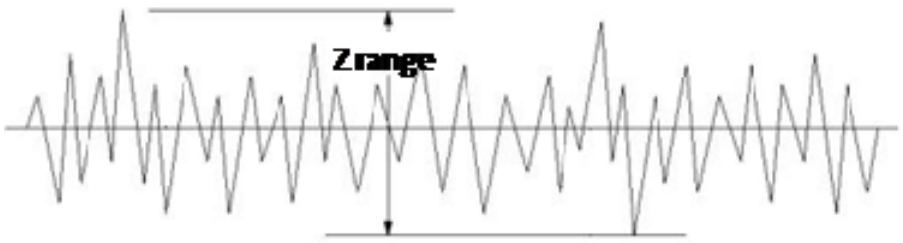

Figura 4.7- Representação gráfica da determinação de Z *range*

Além disso, o programa gerou uma imagem tridimensional em escala nanométrica da superfície, que permitiu uma avaliação qualitativa de cada amostra.

Em seguida, os dados obtidos no MFA foram analisados pelo software WSxM 3.0 (Nanotec Electronica S.L., Espanha) (Horcas et al., 2007), o qual forneceu os valores iniciais de *Power Spectral Density* (PSD) de cada amostra.

O PSD é responsável por separar o perfil de uma superfície em vários comprimentos de onda diferentes que compõem a superfície em questão, e dar informações sobre cada um destes comprimentos de onda. Por exemplo: se realizarmos a secção transversal de uma determinada superfície teremos uma imagem parecida com a onda original da figura 4.8. O que o PSD faz é separar essa onda original em várias outras ondas e nos dar informações sobre cada uma delas, simplificando matematicamente uma superfície. Assim, a onda original é a composição das ondas A, B, C e D, ou seja, a soma delas.

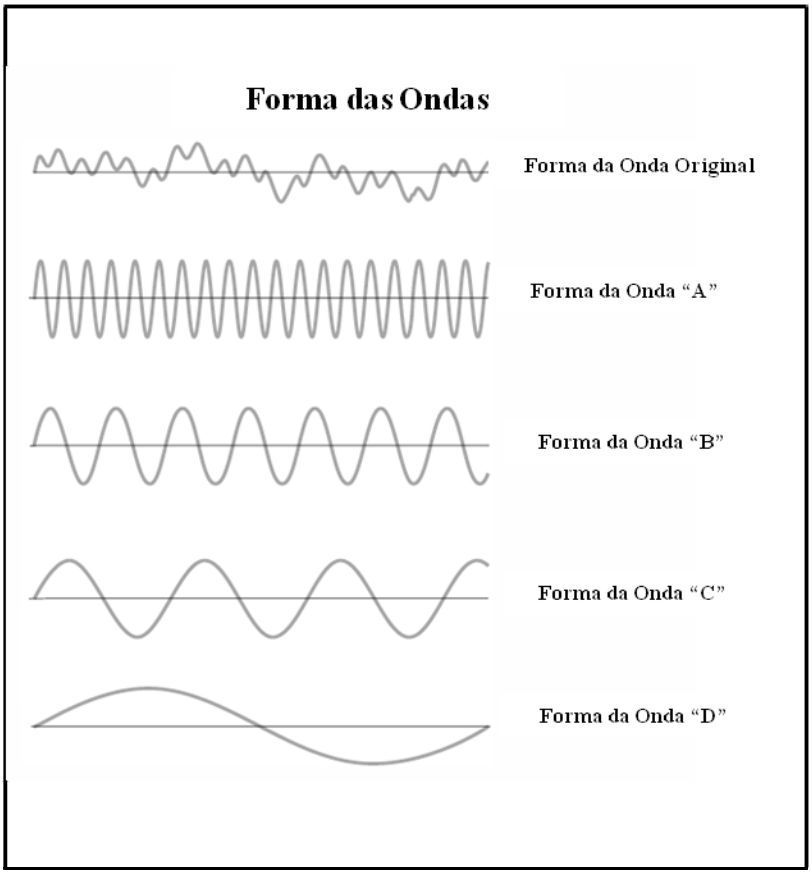

Figura 4.8- Exemplo da decomposição das ondas a partir de uma onda original, gerada pelo PSD

A equação das ondas A, B, C e D depende da amplitude (altura) e do comprimento de onda (distância entre dois picos próximos) de cada uma delas. Se a equações de A, B, C e D forem somadas, teremos uma nova equação que corresponde à onda original. Desta maneira, é possível decompor a superfície em classes de altura e comprimentos de onda. Entenda que as ondulações menores na superfície original são a contribuição de A, enquanto que a ondulação maior, que "guia a trajetória" dessas ondulações menores é dada por D.

Na Figura 4.8 é possível notar que o comprimento total das ondas é o mesmo, pois corresponde ao tamanho da região em que foi feita a imagem. No caso da metodologia apresentada neste estudo, este comprimento seria de 10µm.

4.2.3 Determinação dos valores iniciais de cor

O sistema de notificação de cor mais usado, e que foi escolhido neste trabalho, foi desenvolvido pela CIE (Comission Internationale de l´Eclairage, Comissão Internacional de Iluminação, 1976) e é conhecido como CIEL*a*b*. As coordenadas de cor neste sistema tridimensional são L*= coordenada de luminosidade, que é acromática e varia de 0 (preto) a 100 (branco). As coordenadas a* e b* são cromáticas, a*= coordenada verde-vermelho (-a*: verde, +a*: vermelho); e b*= coordenada azul-amarelo (-b*: azul, +b*: amarelo).

O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro (CM-2600d, Konica Minolta) (Figura 4.9) que permite selecionar o comprimento de onda da radiação adequado à análise de um determinado componente. A precisão dos comprimentos de onda para análise é chamada de banda de passagem, mais comuns na ordem de 10nm. O espectro da análise utilizado neste trabalho foi de 400nm à 700nm que é o espectro para a faixa de luz visível.

Este equipamento possui um sistema patenteado de controle numérico do brilho (Numerical Gloss Control – NGC) no qual, para cada medida de cor, ele produz simultaneamente dados com o componente especular incluído (specular component included – SCI) e excluído (specular component excluded – SCE) o que permite determinar o valor do brilho relativo. Neste equipamento, o NGC é

determinado a partir de dois flashes de luz xenon, responsável por determinar o brilho.

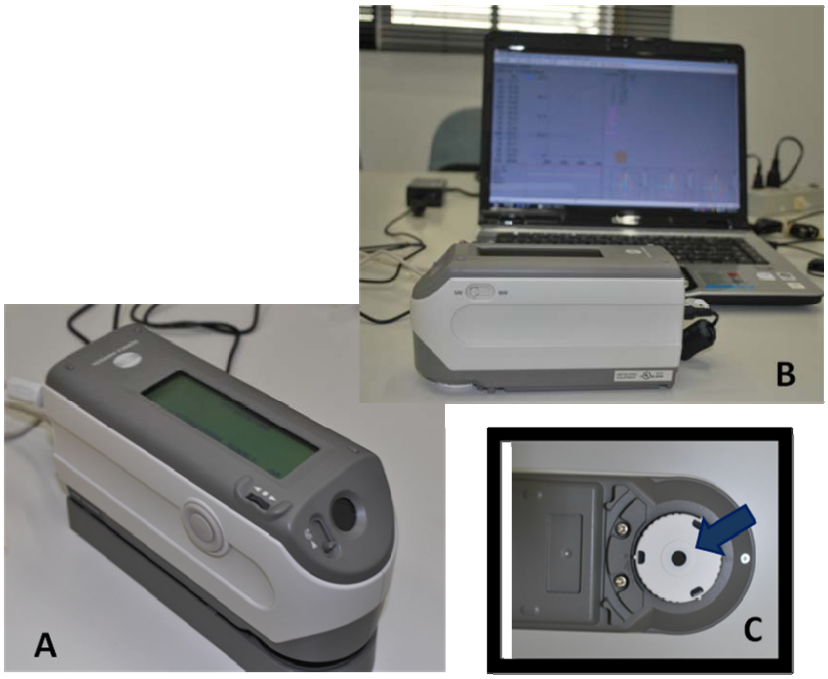

Figura 4.9- A: Espectrofotômetro CM-2600d (Konica Minolta), acoplado a um computador (B). C: Abertura com 3mm de diâmetro para posicionamento das amostras

Para o adequado funcionamento do espectrofotômetro, este deve ser calibrado antes do uso em um padrão branco que é fornecido pelo fabricante (Figura 4.10). Este padrão encaixa-se perfeitamente na abertura de 3mm onde as amostras serão posicionadas para a leitura de cor, e o espectrofotômetro é então zerado considerando sempre o mesmo padrão de branco inicial. Após a calibragem, deu-se início à leitura de cor das dezoito amostras.

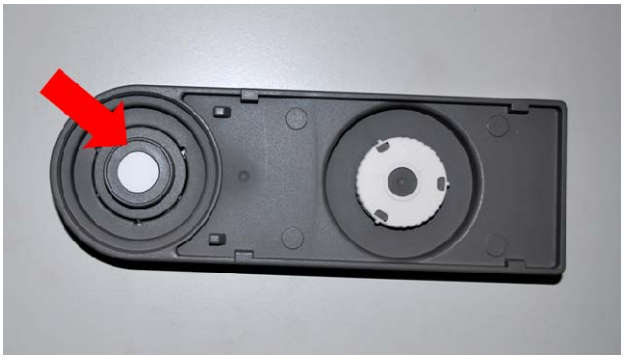

Figura 4.10- Padrão branco utilizado para calibrar o espectrofotômetro (seta)

Com o auxílio do espectrofotômetro que contém uma esfera de integração de reflectância, foram obtidos os valores de L* (luminosidade), a* (vermelho-verde) e b* (azul-amarelo) de cada amostra para determinar a sua cor inicial. Esta leitura foi realizada tendo como iluminante a luz do dia D65 e o observador posicionado a 2°.

Os valores iniciais com SCI e SCE assim como o brilho relativo, foram determinados para todas as amostras.

Um gráfico com a curva espectral e todos os valores de cor eram fornecidos pelo Software OnColor ™ (CyberChrome, Inc., USA).

Após a determinação da cor, todas as amostras ficaram armazenadas em HBSS e geladeira a 4°C, devidamente identificados.

4.2.4 Procedimento clareador

Para o procedimento de clareamento, em todas as amostras foi utilizado um gel clareador a base de peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence® Boost™ PF) (Figura 4.11), com pH de aproximadamente 7,0 (de acordo com o fabricante). O gel foi manipulado conforme especificações do fabricante e foi aplicada uma fina camada de 0,5 a 1mm de gel sobre a superfície vestibular de esmalte das amostras

(Figura 4.12) com o auxílio de uma ponta aplicadora conectada à seringa do produto.

Figura 4.11- Gel clareador a base de peróxido de hidrogênio 38% antes de ser manipulado (seringas conectadas) e após a manipulação (seringa com ponta aplicadora)

O gel foi mantido atuando sobre a superfície das amostras por 15 minutos, conforme recomendação do fabricante. Durante este período, as amostras foram mantidas sobre meio úmido, a fim de evitar uma possível desidratação.

Figura 4.12- Amostra com o gel de clareamento aplicado sobre a superfície vestibular de esmalte

Decorrido este tempo de atuação do gel, o mesmo foi aspirado com o auxílio de uma cânula e sugador a vácuo. O gel remanescente foi removido com uma bolinha de algodão presa a uma pinça clínica.

Uma nova porção de gel de clareamento foi manipulada e aplicada sobre a face vestibular das amostras da mesma maneira descrita anteriormente,

permanecendo por mais 15 minutos sobre cada amostra. Este procedimento foi realizado 9 vezes, totalizando 135 minutos de aplicação do gel sobre cada amostra. Este número de aplicações foi determinado devido às especificações do fabricante, que recomendam no máximo 3 sessões com 3 aplicações em cada sessão.

Após a última aplicação de gel clareador, as amostras foram lavadas em água corrente por 1 minuto e levadas ao banho em ultra-som por 10 minutos imersas em água destilada. Em seguida foram armazenadas em HBSS e geladeira até o momento da próxima avaliação de morfologia e cor.

4.2.5 Determinação dos valores de rugosidade e cor após clareamento

Após 48 horas da realização do procedimento clareador, a rugosidade superficial das amostras foi avaliada.

Para determinação dos valores de rugosidade, perfil morfológico e imagem qualitativa da superfície de esmalte após o tratamento clareador, as 8 amostras que já haviam sido avaliadas no MFA inicialmente foram levadas novamente ao MFA, sob as mesmas condições já descritas. Novas imagens de 10µm X 10µm foram obtidas da superfície de esmalte. Os valores de Ra, RMS, Z *range*, foram analisadas em cada uma das imagens. Os valores de PSD após o clareamento também foram determinados para cada amostra.

Para a determinação da cor, todas as 18 amostras foram novamente analisadas no espectrofotômetro. Os valores de L*, a* e b* e o brilho relativo foram determinados pelo espectrofotômetro.

Entre as avaliações, as amostras estavam devidamente identificadas e armazenadas em HBSS em geladeira.

4.2.6 Polimento das superfícies de esmalte pós-clareamento

Neste momento, as amostras foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais com n=9; considerando que 4 destas amostras de cada grupo pertenciam àquelas avaliadas em MFA.

O primeiro grupo denominado “Flúor” recebeu um polimento na superfície de esmalte vestibular com um disco de feltro acoplado a um contra-ângulo e gel de flúor neutro (Flugel, DFL). Este produto contém 2% de fluoreto de sódio, sacarina sódica, propilenoglicol, glicerina, flavorizante e água deionizada em sua composição. Este produto é indicado para reduzir a hipersensibilidade que eventualmente é causada pelo tratamento clareador, pois quando em contato com as estruturas mineralizadas, as substâncias fluoretadas reagem quimicamente com os íons cálcio e fosfato, proporcionando a precipitação de cristais de fluoreto de cálcio (CaF_2).

Para a padronização do procedimento de polimento, as amostras foram posicionadas em um dispositivo desenvolvido por De Cara (1996), ao qual encontrava-se fixado um micromotor e um contra-ângulo (Figura 4.13).

Figura 4.13- Dispositivo desenvolvido por De Cara (1996) com micromotor e contra-ângulo acoplados

Para a utilização do dispositivo, a amostra foi posicionada em um tubo de PVC contendo cera utilidade em seu orifício, de maneira que a face vestibular da amostra ficava acima do limite do tubo (Figura 4.14).

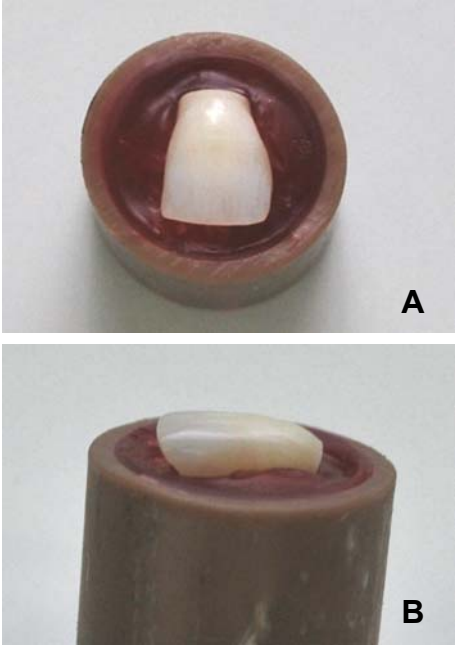

Figura 4.14- Amostra posicionada em tubo de PVC com cera para ser submetida ao polimento - vista de cima (A) e vista lateral (B)

Durante o posicionamento do conjunto no dispositivo, o disco de feltro deveria tocar a superfície de esmalte com ligeira pressão, e nessa posição a altura do contra-ângulo era travada.

Uma porção de aproximadamente 0,5g de gel de flúor foi incorporada de uma só vez sobre a superfície da amostra com o auxílio de uma seringa descartável. O gel permaneceu sobre a amostra por 4 minutos sem nenhum tipo de agitação. Em seguida a amostra foi posicionada no dispositivo, já com a altura estabelecida, e foi então movimentada através de um cursor localizado lateralmente à base, em movimento ântero-posterior, por 1 minuto, enquanto o contra-ângulo era acionado em baixa rotação, sem refrigeração (Figura 4.15). Dessa forma, considera-se que a pressão exercida pelo disco de feltro durante o polimento foi controlada, bem como a quantidade de polimento efetuada, igualmente para todas as amostras.

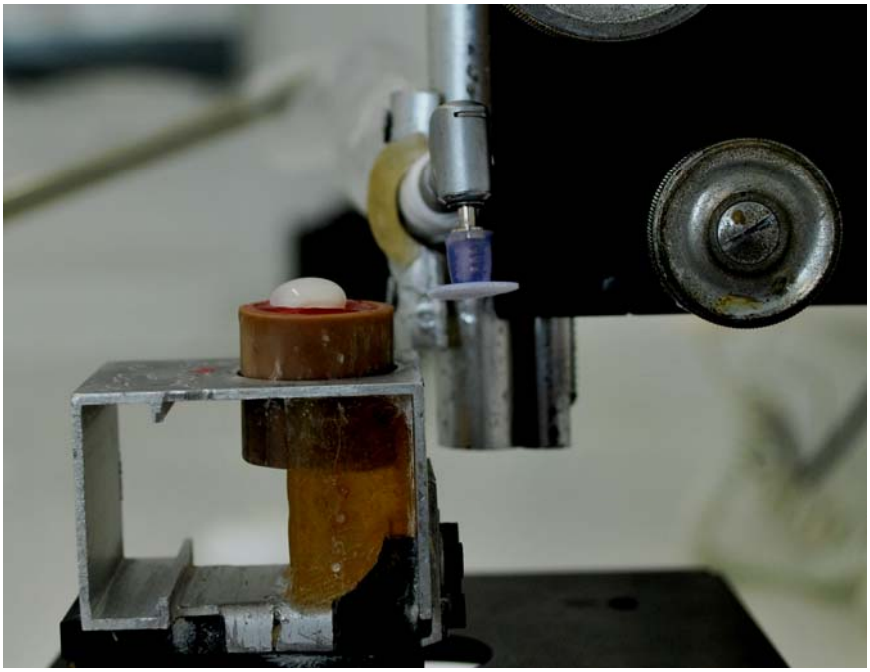

Figura 4.15- Detalhe do dispositivo de De Cara onde pode-se ver o disco de feltro em contra-ângulo já travados em altura pré-determinada, enquanto o gel de flúor permanecia 4 minutos sobre a amostra

Após o polimento, já fora do dispositivo, as amostras foram lavadas em água corrente. A superfície de esmalte foi limpa com uma bolinha de algodão embebida em Tergensol, a fim de remover resíduos de óleo que pudessem ter permanecido na superfície de esmalte, em seguida as amostras foram lavadas novamente. Um banho em ultra-som foi realizado por 10 minutos em água destilada, a fim de remover possíveis resíduos da superfície de esmalte. Após o procedimento de limpeza, as amostras ficaram acondicionadas em frascos individuais, devidamente identificados, imersas em HBSS e geladeira.

O segundo grupo, também com n=9 (sendo que 4 foram previamente avaliadas em MFA), denominado “nano-hidroxiapatita” (nHA) recebeu um polimento na superfície de esmalte vestibular com um disco de feltro acoplado a um contra-ângulo e uma pasta dentifrícia contendo nanopartículas de <hidroxiapatita médica> (Nano <mHAP>) Apagard® (Sangi Co. – Japão). A Apagard® é uma pasta com nanocristais (com aproximadamente 20 a 80 nanômetros), os quais são compostos por fosfato de cálcio, quimicamente semelhante à hidroxiapatita dos dentes humanos. Esta pasta também contém em sua composição: dihidratosilicato de anido

de fosfato de cálcio, água deionizada, glicerina, hidroxiapatita, ácido beta glicirretínico, cloreto de cetilpiridinium, flavorizantes e estabilizantes (Figura 4.16).

Figura 4.16- Pasta dentifrícia Apagard® Premio (Sangi.Co), contendo partículas de Nano<mHAP>

Para o polimento desse grupo, foram tomados os mesmo cuidados na padronização da pressão exercida durante o polimento.

Para a utilização do dispositivo, as amostras foram posicionadas em um tubo de PVC contendo cera utilidade em seu orifício, de maneira que a face vestibular das amostras ficava acima do limite do tubo.

Durante o posicionamento do conjunto no dispositivo, o disco de feltro deveria tocar a superfície de esmalte com ligeira pressão, e nessa posição a altura do contra-ângulo era travada.

A quantidade de pasta dentifrícia empregada foi a mesma para todas as amostras: 0,5 cm do produto dispensado em uma placa de vidro foi incorporado de uma só vez à face vestibular de cada amostra. A fim de submeter os dois grupos experimentais ao mesmo tempo de exposição ao produto, a pasta permaneceu sobre a amostra por 4 minutos sem nenhum tipo de agitação. Em seguida a amostra já posicionada no dispositivo, com a altura estabelecida, foi então movimentada através de um cursor localizado lateralmente à base, em movimento ântero-posterior, por 1 minuto, enquanto o contra-ângulo era acionado em baixa rotação, sem refrigeração (Figura 4.17).

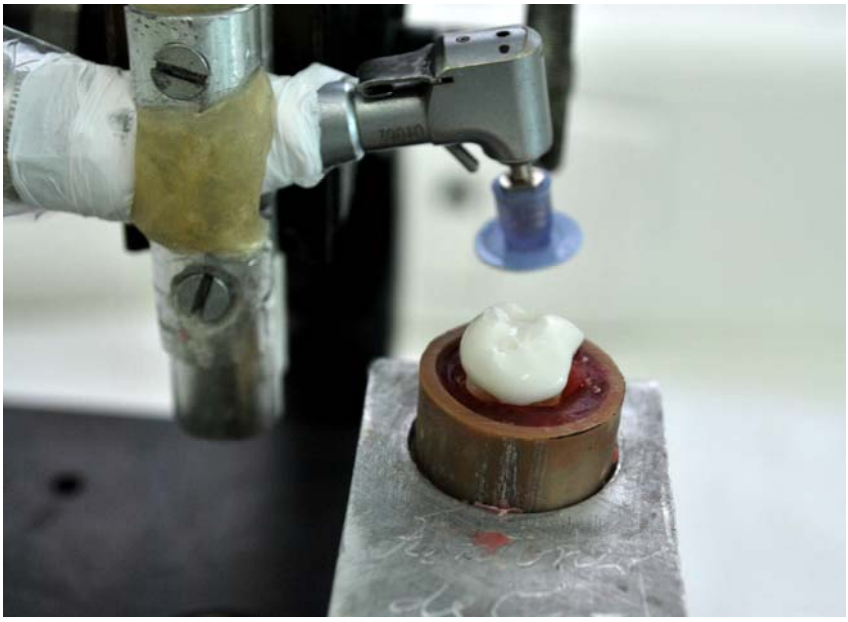

Figura 4.17- Disco de feltro em contra-ângulo já travados em altura pré-determinada, enquanto pasta dentifrícia permanecia 4 minutos sobre a amostra

Após o polimento, já fora do dispositivo, as amostras foram lavadas em água corrente por 1 minuto. A superfície de esmalte foi limpa com uma bolinha de algodão embebida em Tergensol por 30 segundos, a fim de remover resíduos de óleo que pudessem ter permanecido na superfície, e as amostras foram lavadas novamente. Em seguida, um banho em ultra-som foi realizado por 10 minutos em água destilada, a fim de remover possíveis resíduos. Após o procedimento de limpeza, as amostras ficaram acondicionadas em frascos individuais imersas em HBSS e geladeira.

4.2.7 Determinação dos valores de rugosidade e cor após o polimento

Para determinação dos valores de rugosidade, perfil morfológico e imagem qualitativa da superfície de esmalte 1 semana após os diferentes polimentos que foram realizados, as 8 amostras que já haviam sido avaliadas em MFA (4 amostras de cada grupo), foram levadas novamente ao MFA sob as mesmas condições já descritas. Novas imagens de 10µm X 10µm foram obtidas da superfície de esmalte. Os valores de Ra, RMS e Z *range* foram analisadas em cada uma das imagens. As

imagens tridimensionais de cada amostra também foram obtidas. Os valores de PSD de cada amostra após polimento foram determinados pelo software WSxM 3.0.

Para a determinação da cor, todas as amostras foram novamente analisadas no espectrofotômetro. Os valores de L*, a* e b* e o brilho relativo também foram determinados.

Com os valores de L*, a* e b* obtidos nas leituras iniciais, pós-clareamento e pós-polimento; pôde-se determinar o valor de C* e ΔE^*,

A variável C* corresponde a alterações de cor nas coordenadas cromáticas, onde C* pode ser calculado através da seguinte fórmula:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}.$$

Com esta fórmula é possível determinar a saturação do croma (C*) das amostras em cada tempo experimental: inicial, clareado e polido.

A variável ΔE^* significa a diferença de cor da mesma amostra antes e após algum procedimento. Esta diferença de cor é calculada a partir de ΔL^* (diferença de claridade) e ΔC^* (diferença de saturação nas coordenadas cromáticas). Este ΔE^* é conseguido através da seguinte equação:

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}, \text{ onde:}$$

$\Delta L = L_{final} - L_{inicial}$, $\Delta a = a_{final} - a_{inicial}$, e $\Delta b = b_{final} - b_{inicial}$.

Neste experimento, observamos se houve diferença de cor (ΔE^*) entre:

- a cor inicial e após o clareamento: para verificar se o tratamento clareador foi eficiente a ponto de gerar uma diferença de cor perceptível; e
- A cor inicial e após o polimento; para verificar se, após o polimento, as amostras apresentavam diferença de cor em relação ao tempo inicial.

Com estes valores de ΔE, foi possível determinar se, após o polimento com diferentes produtos, houve alteração de cor nas amostras.

Além disso, a avaliação do brilho relativo foi realizada para cada amostra considerando os valores de brilho relativo iniciais, pós-clareamento e pós-polimento.

4.2.8 Análise estatística

Todos os dados obtidos (valores de rugosidade Ra, RMS, *Z range*; e valores de cor L*, C* e brilho) foram comparados estatisticamente.

Inicialmente, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se havia normalidade na distribuição dos dados. Em seguida, tendo em vista que os dados se mostraram normais, foram realizados a Análise de Variância (ANOVA) e o teste Tukey.

Em toda análise estatística foi adotado um nível de significância (α) de 5%, ou seja, foram considerados como sendo significantes os resultados que apresentaram p-valor inferior a 5% ($p<0,05$). Foi utilizado o software SAS versão 9.1.

Quanto aos valores de PSD, para cada grupo experimental (Flúor e nHA) foi obtida uma média dos valores de comprimento de onda em cada tempo experimental (inicial, clareado e polido). Com os valores da média, foi plotado um gráfico de PSD para cada grupo.

Além dos resultados numéricos, as imagens tridimensionais fornecidas pelo MFA foram comparadas qualitativamente.

5 RESULTADOS

5.1 Análise da alteração de rugosidade

Para análise da alteração de rugosidade, apenas 4 amostras de cada grupo tiveram a sua rugosidade avaliada pelo MFA. Os valores de rugosidade (Ra, RMS e Z range) de cada amostra e em cada tempo experimental estão representados no Apêndice A.

Inicialmente foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, para verificar se a distribuição da variável resposta se ajustava à distribuição normal (p-valor >0,05) (Apêndice B). O teste de esfericidade de Mauchly (Apêndice C) demonstrou homogeneidade das amostras. Definida a possibilidade de aplicação de estatísticas paramétricas, foi eleito o teste de Análise de Variância (ANOVA). O nível de significância adotado foi de 5% ($p<0,05$). Como teste estatístico complementar foi utilizado o teste Tukey para comparação das médias, a fim de detectar entre quais grupos havia diferenças estatisticamente significantes.

5.1.1 Ra

A análise estatística para Ra foi realizada com dados vinculados, sendo que as amostras foram comparadas com elas mesmas, entre cada tempo experimental. Isso possibilitou eliminar a heterogeneidade dos dentes originais existente entre cada amostra visto que trata-se de um substrato que não apresenta um padrão de rugosidade inicial.

O teste ANOVA aplicado no grupo Flúor (Tabela 5.1) mostrou não haver diferença estatística para Ra entre os tempos experimentais ($p=0,926$). Isso significa que, após o clareamento, os valores de rugosidade Ra não foram estatisticamente diferentes da rugosidade inicial; e, após o polimento com Flúor neutro, os valores Ra

de rugosidade também não foram estatisticamente diferentes da rugosidade inicial, nem tampouco da rugosidade após o clareamento em cada amostra (Gráfico 5.1).

Tabela 5.1- Análise de variância de um fator de medida repetida para Ra (Grupo Flúor)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	15,415	2	7,707	0,078	0,926	5,143	0,025	0,057
Resíduo	594,199	6	99,033					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;
η2=Medida de associação (Eta Squared).

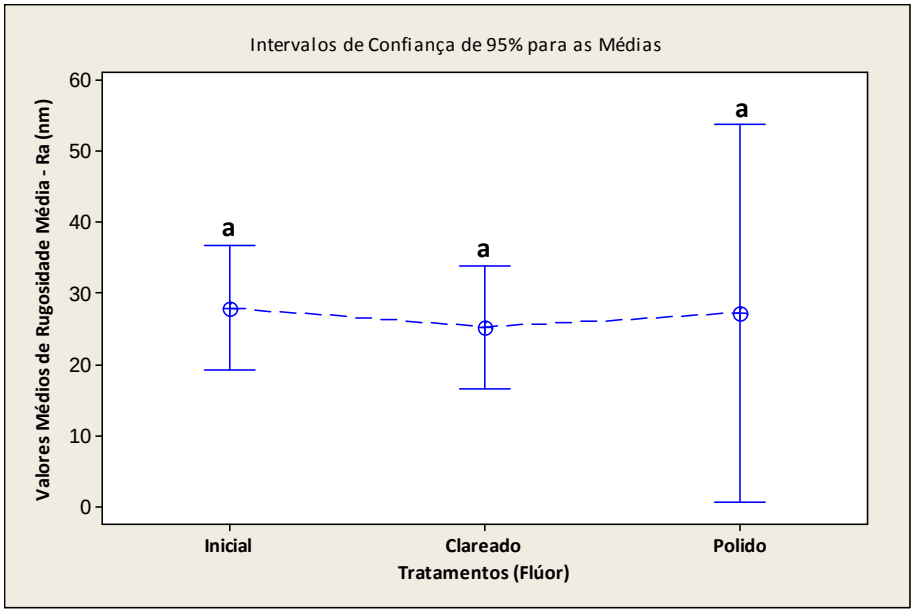

Gráfico 5.1- Comparação da média de rugosidade (Ra) do grupo Flúor entre os diferentes tempos experimentais. As letras semelhantes demonstram não haver diferença estatística entre os tempos experimentais

O teste ANOVA aplicado no grupo nHA (Tabela 5.2) também mostrou não haver diferença estatística para Ra entre os tempos experimentais (p=0,059). Da mesma maneira que foi observado no grupo Flúor, o grupo nHA não mostrou alteração de rugosidade Ra estatisticamente significante entre os tempos experimentais inicial, clareado e após o polimento com pasta contendo nano<mHAP> (Gráfico 5.2).

Tabela 5.2- Análise de variância de um fator de medida repetida para Ra (Grupo nHA)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	666,121	2	333,061	4,695	0,059	5,143	0,610	0,552
Resíduo	425,657	6	70,943					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;
η2=Medida de associação (Eta Squared).

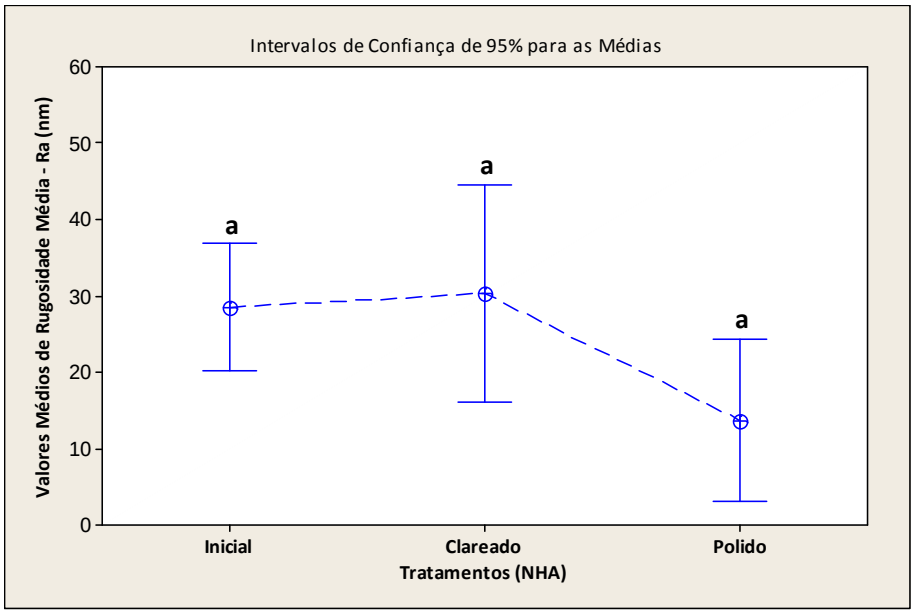

Gráfico 5.2- Comparação da média de rugosidade (Ra) do grupo nHA entre os diferentes tempos experimentais. As letras semelhantes demonstram não haver diferença estatística entre os tempos experimentais

5.1.2 RMS

A análise estatística para RMS foi realizada da mesma maneira descrita para Ra, com dados vinculados, comparando a mesma amostra em seus diferentes tempos experimentais.

O teste ANOVA aplicado no grupo Flúor (Tabela 5.3) mostrou não haver diferença estatística para RMS entre os tempos experimentais (p=0,865). Isso significa que, após o clareamento, os valores de rugosidade RMS também não foram estatisticamente diferentes da rugosidade inicial; e, após o polimento com Flúor

neutro, os valores RMS de rugosidade não foram estatisticamente diferentes da rugosidade inicial, nem tampouco da rugosidade após o clareamento em cada amostra (Gráfico 5.3).

Tabela 5.3- Análise de variância de um fator de medida repetida para RMS (Grupo Flúor)

Fonte de variação	SQ	gl*	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	11,463	1,025	11,181	0,037	0,865	10,128	0,012	0,052
Resíduo	927,904	3,076	301,706					

* ajuste segundo o "ε" de Greenhouse-Geisser
alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;
η2=Medida de associação (Eta Squared).

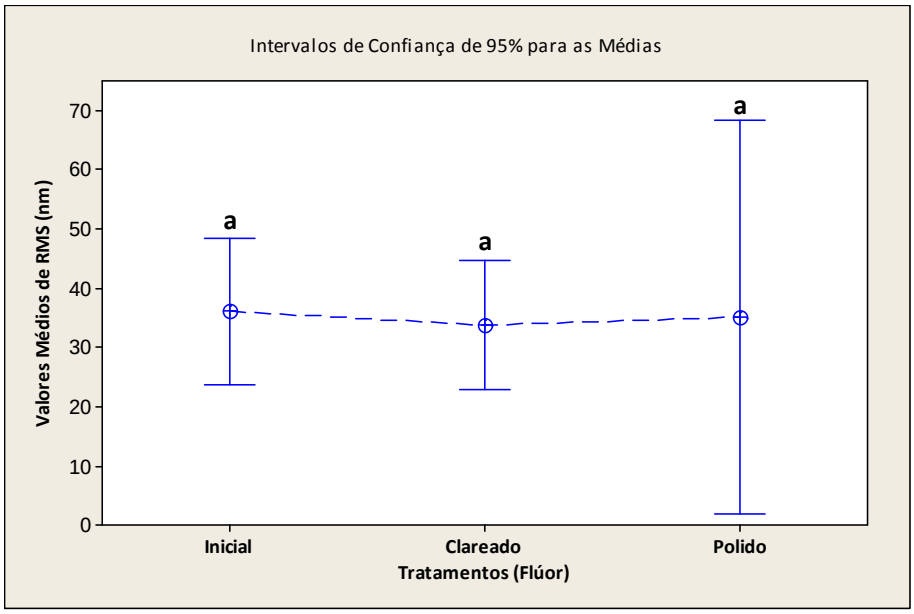

Gráfico 5.3- Comparação da média de rugosidade (RMS) do grupo Flúor entre os diferentes tempos experimentais. As letras semelhantes demonstram não haver diferença estatística entre os tempos experimentais

O teste ANOVA aplicado no grupo nHA também mostrou não haver diferença estatística para RMS entre os tempos experimentais (p=0,050) (Tabela 5.4). Da mesma maneira que foi observado no grupo Flúor, o grupo nHA não mostrou alteração de rugosidade RMS estatisticamente significante entre os tempos experimentais inicial, clareado e após o polimento com pasta contendo <mHAP> em

cada amostra. Neste caso, apesar de a análise estatística não apontar diferença matemática significativa, o valor encontrado para *p* demonstra que este grupo apresenta uma tendência a diferenciação de RMS entre os tempos experimentais (Gráfico 5.4).

Tabela 5.4- Análise de variância de um fator de medida repetida para RMS (Grupo nHA)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	1083,638	2	541,819	5,108	0,050	5,143	0,630	0,589
Resíduo	636,484	6	106,081					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;
η2=Medida de associação (Eta Squared).

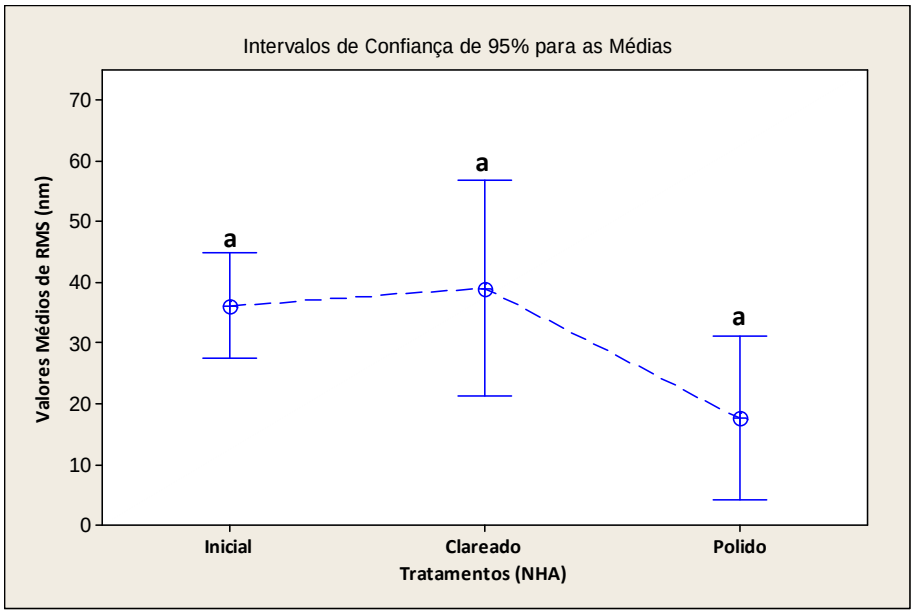

Gráfico 5.4- Comparação da média de rugosidade (RMS) do grupo nHA entre os diferentes tempos experimentais. As letras semelhantes demonstram não haver diferença estatística entre os tempos experimentais

5.1.3 *Z range*

A análise estatística para *Z range* foi realizada da mesma maneira descrita para Ra e RMS, com dados vinculados, comparando a mesma amostra em seus diferentes tempos experimentais.

O teste ANOVA aplicado no grupo Flúor mostrou não haver diferença estatística em *Z range* entre os tempos experimentais (p=0,98) (Tabela 5.5). Isso significa que, após o clareamento, os valores de *Z range* não foram estatisticamente diferentes dos valores de *Z range* inicial; e, após o polimento com Flúor neutro, os valores de *Z range* não foram estatisticamente diferentes dos valores de *Z range* inicial e clareado para cada amostra (Gráfico 5.5).

Tabela 5.5- Análise de variância de um fator de medida repetida para *Z range* (Grupo Flúor)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	303,300	2	151,650	0,019	0,981	5,143	0,006	0,052
Resíduo	46920,159	6	7820,026					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;
η2=Medida de associação (Eta Squared).

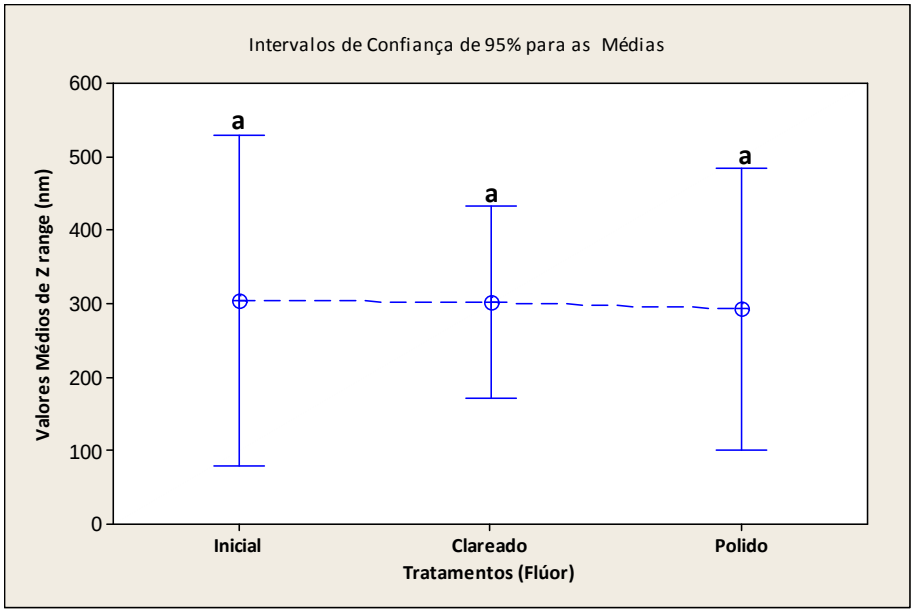

Gráfico 5.5- Comparação da média dos valores de *Z range* do grupo Flúor entre os diferentes tempos experimentais. As letras semelhantes demonstram não haver diferença estatística entre os tempos experimentais

Já o teste ANOVA aplicado no grupo nHA mostrou resultados significantes ao nível de 5% (p=0,033) para as médias dos valores de *Z range* obtidas nos diferentes tempos experimentais (Tabela 5.6).

Tabela 5.6- Análise de variância de um fator de medida repetida para *Z range* (Grupo nHA)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	53129,17	2	26564,59	6,371	0,033	5,143	0,680	0,687
Resíduo	25018,49	6	4169,75					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;
η2=Medida de associação (Eta Squared).

Para detectar onde ocorreram as diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey. As comparações fornecidas pelo teste de Tukey evidenciaram diferenças com *p*-valor < 0,001 (Tabela 5.7). O Gráfico 5.6 ilustra os resultados de *Z range*, onde as barras indicam erro padrão de média e letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes (*p* < 0,001).

Tabela 5.7- Tabela de múltipla comparação do teste de Tukey para *Z range* nos tratamentos experimentais do Grupo nHA

	inicial	clareado	polido
Tratamentos	282,03± 43,10[a, b]	321,10± 100,60[b]	164,53± 53,60[a]

alfa=0.05;
Q(6;3) =4,34;
Resíduo=4169,74;
Valor crítico=140,12

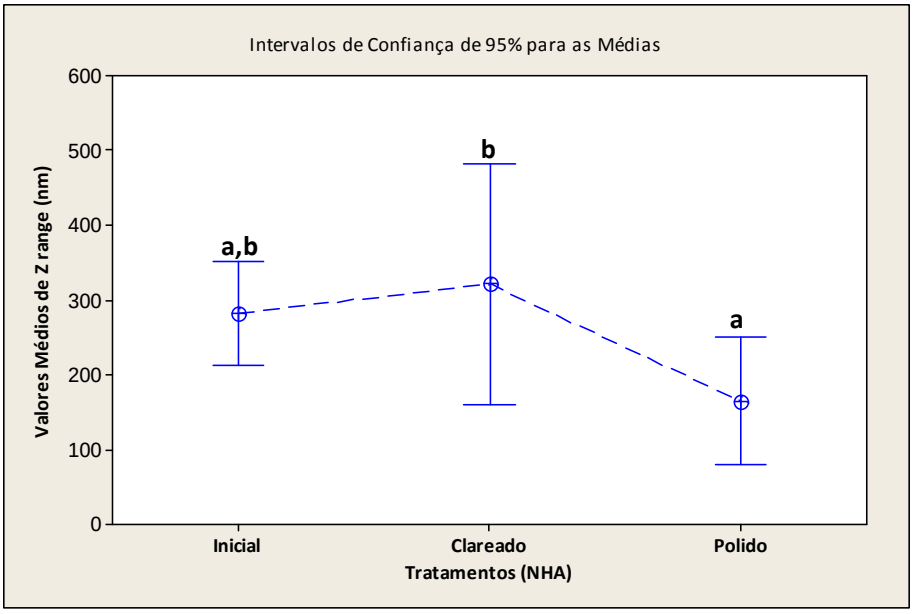

Gráfico 5.6- Comparação da média dos valores de *Z range* do grupo nHA entre os diferentes tempos experimentais. As letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p<0,001)

Pela análise do Gráfico 5.6, considerando-se que semelhanças estatísticas estão indicadas pela mesma letra, observa-se que menores valores médios de *Z range* foram encontrados para o tempo experimental “polido”, especialmente quando comparado ao tempo experimental “clareado”, apresentando diferença estatisticamente significante entre estes tempos experimentais.

5.1.4 *Power Spectral Density* (PSD)

Os dados obtidos no MFA foram analisados pelo software WSxM 3.0, o qual calculou o PSD das amostras de cada grupo (Flúor e nHA), nos três tempos experimentais (inicial, clareado e polido).

Para cada grupo foi determinada uma média do PSD em cada tempo experimental. Os valores da média do PSD de cada grupo foram plotados em um mesmo gráfico, a fim de comparar a contribuição de cada comprimento de onda nos diferentes tempos experimentais.

A análise do PSD mostra a contribuição dos diferentes comprimentos de onda morfológicos em uma superfície. Porém, as características superficiais (ou, os comprimentos de onda morfológicos) que interferem na aparência de uma amostra, são apenas as características superficiais presentes no mesmo espectro correspondente ao da luz visível (de 400nm a 700nm). Isso ocorre porque a luz visível é capaz de interagir somente com os comprimentos de onda morfológicos de mesma grandeza. Sendo assim, os gráficos 5.7 e 5.8 representam o PSD médio de cada grupo, somente no comprimento de onda da luz visível; visto que este é o comprimento de onda capaz de interferir na aparência superficial das amostras.

Nos gráficos 5.7 e 5.8 temos o eixo *x* representado pela freqüência. A freqüência é calculada através da fórmula:

$$\boxed{\text{Frequência} = 1/\text{comprimento de onda}}$$

O comprimento de onda morfológico é dado em nanômetros (nm), por isso a freqüência é dada em nm^{-1}. Sendo assim, os picos localizados no lado esquerdo do eixo *x* representam os comprimentos de onda maiores, e os picos localizados no lado direito do eixo *x* representam os comprimentos de onda menores. Já o eixo *y* é representado pelo PSD, que mostra a contribuição de cada comprimento de onda. Isso significa que, os comprimentos de onda maiores terão uma maior contribuição na formação da topografia superficial em relação aos comprimentos de onda menores, que terão uma menor contribuição na formação da topografia superficial.

Considerando os valores de PSD apenas dentro dos comprimentos de onda de luz visível, é possível observar no gráfico 5.7 que, após o clareamento, não houve muita alteração no PSD em relação ao tempo inicial. Após o polimento com gel de flúor neutro, o PSD apresentou uma pequena diferença em relação aos tempos experimentais “inicial” e “clareado”, havendo uma menor contribuição de todos os comprimentos de onda morfológicos analisados, principalmente os menores comprimentos de onda.

O gráfico 5.8 mostra que, no grupo nHA, também não houve muita alteração no PSD das amostras após o clareamento quando comparadas ao tempo inicial.

Porém, após o polimento com pasta contendo Nano <mHAP>, o PSD diminuiu consideravelmente em todos os comprimentos de onda. Isso significa que os comprimentos de onda em questão, estiveram menos presentes nas amostras após o polimento, contribuindo menos na formação da topografia superficial. Sendo assim, podemos observar que as amostras do grupo nHA apresentaram uma superfície mais plana após o polimento, onde os comprimentos de onda estão representados em menor intensidade.

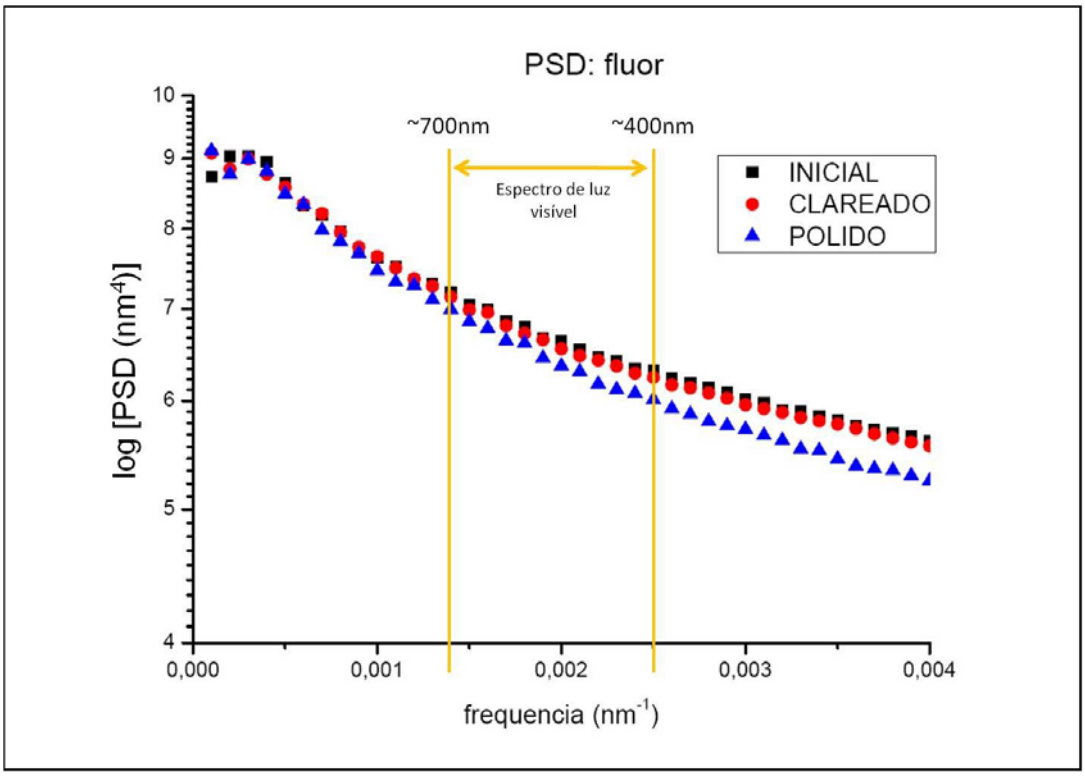

Gráfico 5.7- Comparação do *Power Spectral Density (PSD)* médio das amostras do grupo Flúor no espectro de luz visível (400nm a 700nm), nos tempos experimentais inicial (preto), clareado (vermelho) e polido (azul)

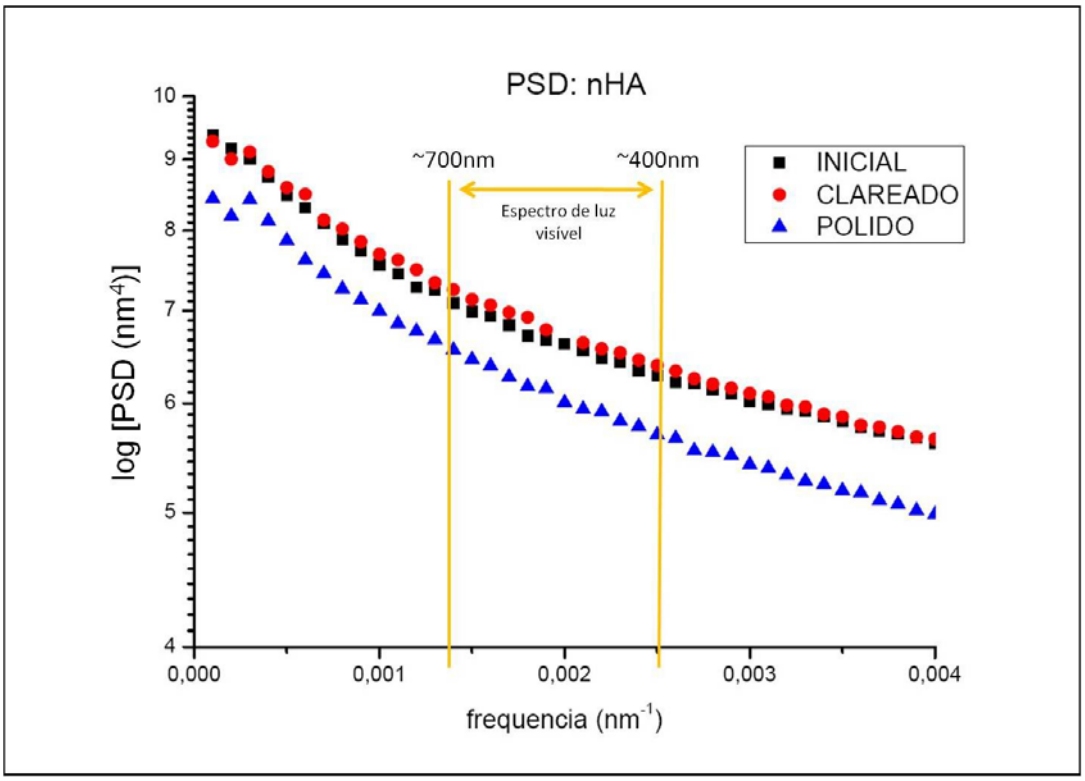

Gráfico 5.8- Comparação do *Power Spectral Density (PSD)* médio das amostras do grupo nHA no espectro de luz visível (400nm a 700nm), nos tempos experimentais inicial (preto), clareado (vermelho) e polido (azul)

5.1.5 Aspecto topográfico superficial

As figuras 5.1 e 5.2 apresentam a imagem bidimensional da topografia superficial das quatro amostras analisadas em MFA dos grupos Flúor e nHA nos diferentes tempos experimentais: inicial, clareado e polido.

Convém ressaltar que em cada amostra, os campos registrados nos tempos experimentais inicial, clareado e polido, não foram obtidos exatamente da mesma área, pois a metodologia empregada não permite localizar novamente uma área com tais dimensões.

Observando-se o aspecto topográfico das amostras dos dois grupos no tempo inicial, é possível notar a presença de ranhuras regulares geralmente direcionadas no mesmo sentido, caracterizando a topografia natural da superfície de esmalte sem nenhum tipo de tratamento. Após o clareamento das amostras com peróxido de hidrogênio 38%, estas ranhuras mantiveram-se nas superfícies não sendo possível notar um aumento na rugosidade superficial, nem tampouco aumento na largura e profundidade destas ranhuras. As irregularidades presentes em cada amostra no seu tempo inicial mantiveram-se nas superfícies após o tratamento clareador. Apenas na amostras nHA 3 é possível notar maior irregularidade superficial após tratamento clareador, característica esta que não foi observada em nenhuma outra amostra dos dois grupos experimentais.

Após polimento com fluoreto de sódio 2% neutro (Grupo Flúor- Figura 5.1), não foi possível observar nenhuma diferença sobre as superfícies deste grupo após o polimento, excetuando-se pela presença de ranhuras e irregularidades que já haviam sido observadas nos tempos experimentais inicial e clareado. Já no Grupo nHA (Figura 5.2), após o polimento foi possível observar que as irregularidades foram amenizadas caracterizando um aspecto mais liso das superfícies das amostras.

As figuras 5.3 e 5.4 permitem observar comparativamente o aspecto topográfico tridimensional das quatro amostras analisadas em MFA dos grupos Flúor e nHA nos diferentes tempos experimentais: inicial, clareado e polido.

Como pode ser observado, irregularidades superficiais estão presentes em todas as amostras em seu tempo inicial. Após clareamento com peróxido de

hidrogênio 38%, as irregularidades permaneceram na superfície de esmalte, porém não é possível afirmar que ocorreu um aumento ou diminuição na rugosidade superficial, pois as características topográficas das amostras após clareamento são muito semelhantes às características topográficas iniciais nos dois grupos experimentais.

Após polimento com fluoreto de sódio 2% neutro (Figura 5.3), principalmente as amostras FL 1 e FL 3 apresentaram uma lisura superficial, caracterizando uma superfície mais plana. Porém os vales presentes nas amostras FL 1 e FL 3 após polimento, aparentam ser mais profundos quando comparados aos vales das mesmas amostras nos tempos “inicial” e “clareado”. No grupo nHA (Figura 5.4), após o polimento as quatro amostras apresentaram um aspecto superficial mais plano, no qual os picos e vales, apesar de ainda presentes, revelam menor diferença de altura, especialmente nas amostras nHA 1 e nHA 4.

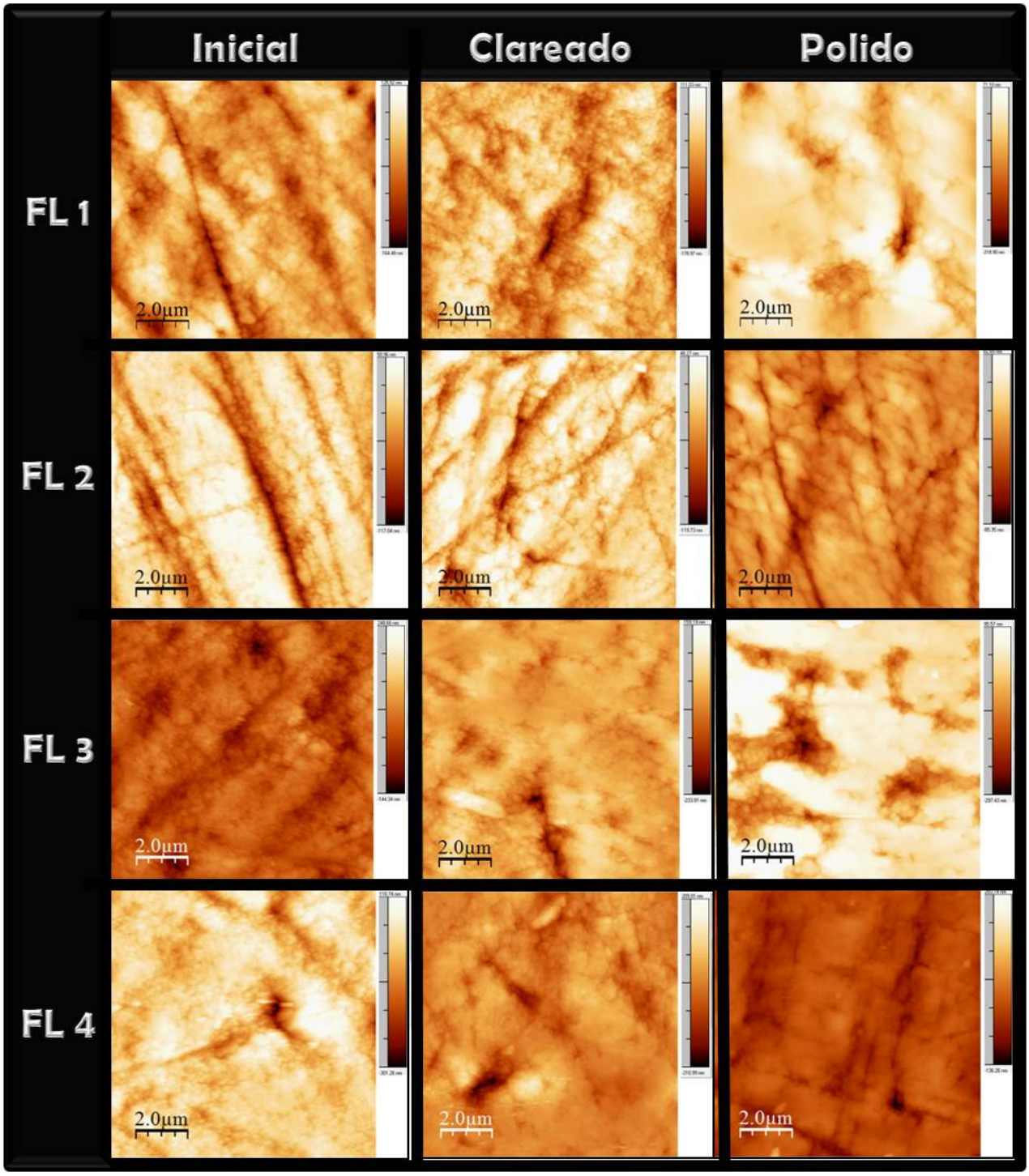

Figura 5.1- Imagem bidimensional da topografia superficial das amostras do grupo Flúor, obtidas em MFA em janela de 10µmX10µm, velocidade de 1Hz e 512 X 512 pontos

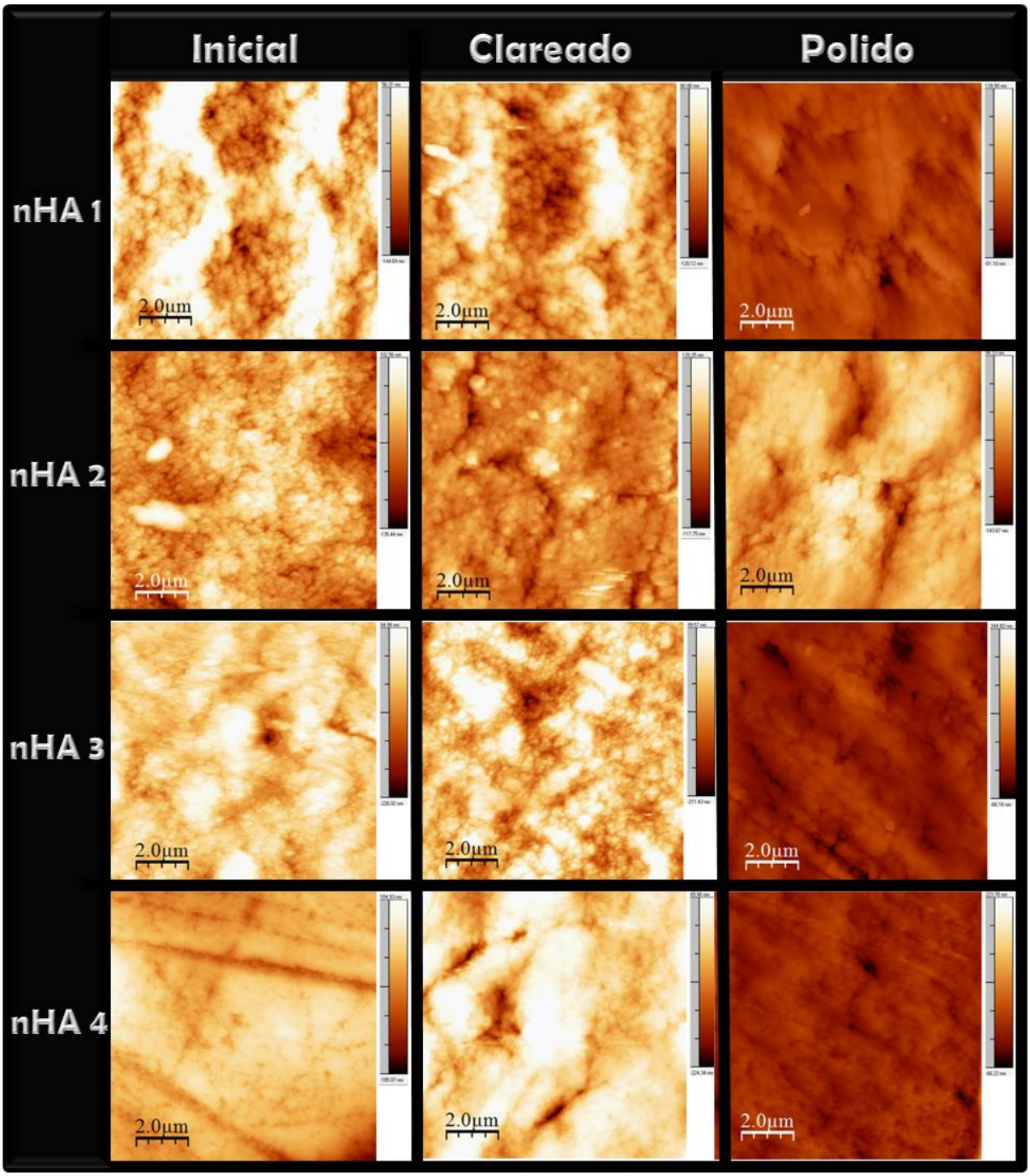

Figura 5.2- Imagem bidimensional da topografia superficial das amostras do grupo nHA, obtidas em MFA em janela de 10µmX10µm, velocidade de 1Hz e 512 X 512 pontos

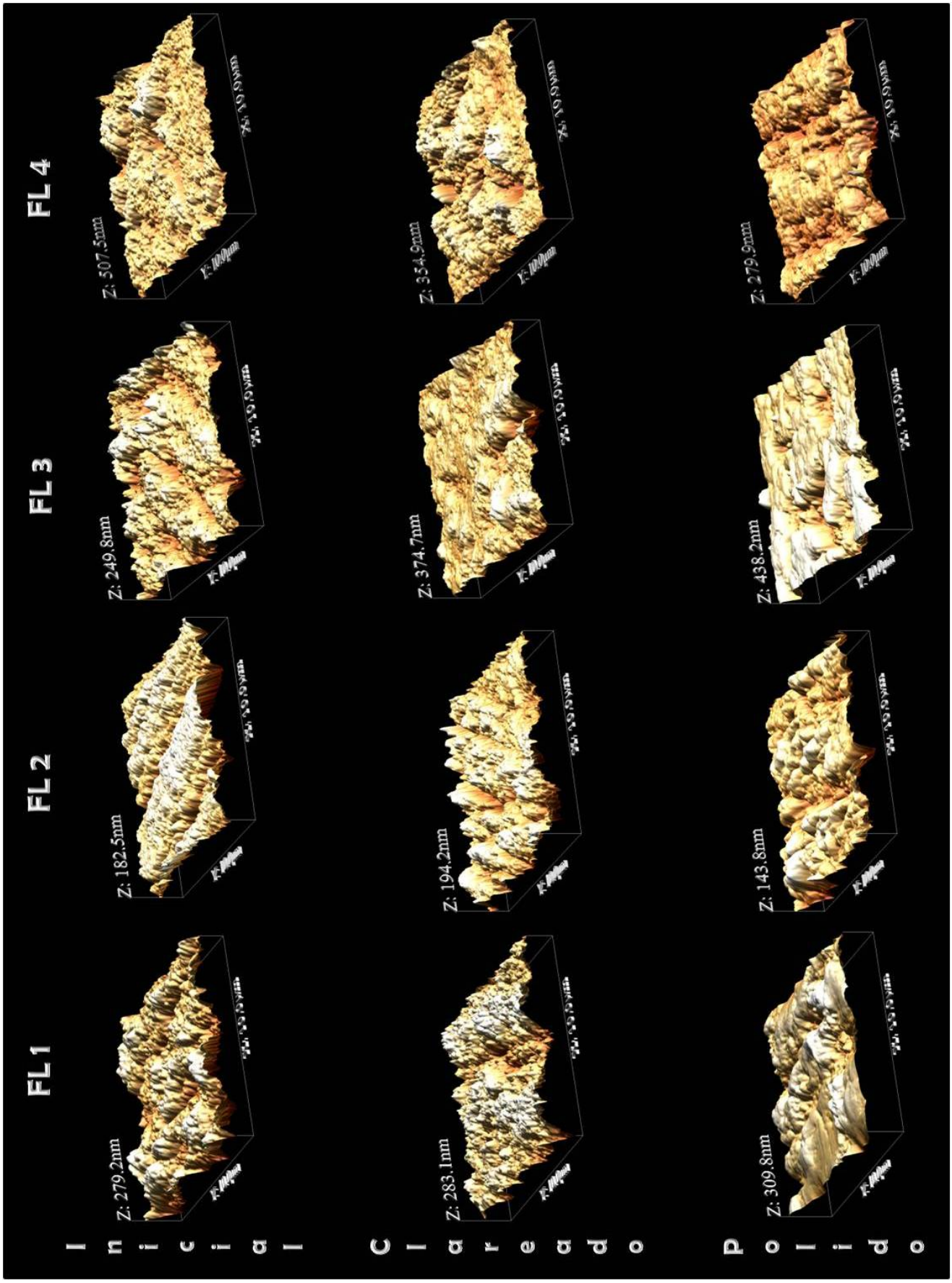

Figura 5.3- Imagem tridimensional da topografia superficial das amostras do grupo Flúor, obtidas em MFA em janela de 10μmX10μm, velocidade de 1Hz e 512 X 512 pontos

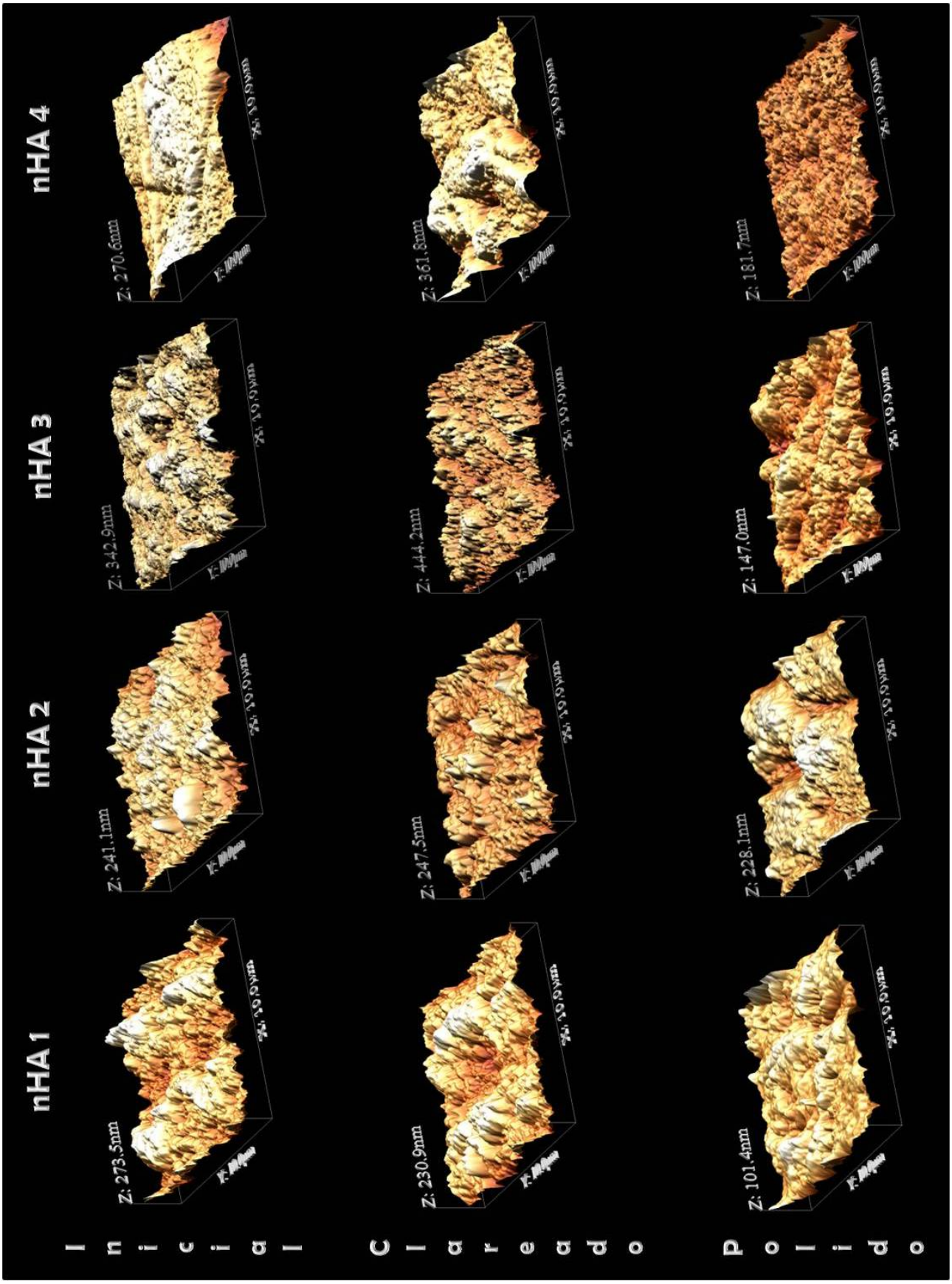

Figura 5.4- Imagem tridimensional da topografia superficial das amostras do grupo nHA, obtidas em MFA em janela de 10μmX10μm, velocidade de 1Hz e 512 X 512 pontos

5.2 Análise da alteração de cor

A análise de cor foi realizada nas 9 amostras de cada grupo, lembrando que 4 dessas amostras foram submetidas à análise de rugosidade descrita anteriormente.

Da mesma maneira que foi feita a análise estatística para rugosidade, a análise estatística para as variáveis de cor foram realizadas com dados vinculados, sendo que as amostras foram comparadas com elas mesmas, entre cada tempo experimental. Como já foi citado, isso possibilitou eliminar a heterogeneidade de cor dos dentes originais, pois se trata de um substrato que não apresenta um padrão de cor inicial.

Com os parâmetros de cor L* e C* determinados nos três tempos experimentais (inicial, clareado e polido), foram obtidas as variações de luminosidade (eixo acromático), croma (eixo cromático) e a diferença de cor (ΔE) entre os tempos experimentais. A seguir serão descritos os resultados de cada um desses parâmetros em cada tempo experimental. Todos os valores de L*, a*, b*, C*, ΔL, ΔE e gloss dos grupos Flúor e nHA estão apresentados nas tabelas dos Apêndices D e E, respectivamente.

5.2.1 Luminosidade (L*)

Através de uma Análise de Variância (ANOVA), foi realizada a comparação entre as médias de L* de cada tempo experimental para cada grupo.

Para o grupo Flúor, a ANOVA mostrou que houve diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p=0,000) (Tabela 5.8).

O teste de múltipla comparação de Tukey mostrou que, no grupo Flúor, o valor médio de L* do tempo “inicial” foi estatisticamente diferente quando comparado ao tempo “clareado” e “polido” (Tabela 5.9). Já o valor de L* do tempo “clareado” não diferiu estatisticamente do tempo experimental “polido”. O resultado desta análise está representado nas letras minúsculas acima das barras de L* (Gráfico 5.9).

Tabela 5.8- Análise de variância de um fator de medida repetida para L* (Grupo Flúor)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	144,487	2	72,244	37,395	0,000	3,634	0,824	1,000
Resíduo	30,910	16	1,932					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;

Tabela 5.9- Tabela de múltipla comparação do teste de Tukey para L* nos tratamentos experimentais do Grupo Flúor

	inicial	clareado	polido
Tratamentos	71,86 ± 2,48[a]	77,38 ± 2,07[b]	75,72 ± 1,75[b]

alfa=0.05;
Q(6;3) =4,34;
Resíduo=4169,74;
Valor crítico=140,12
Unidade=CIEL*a*b*

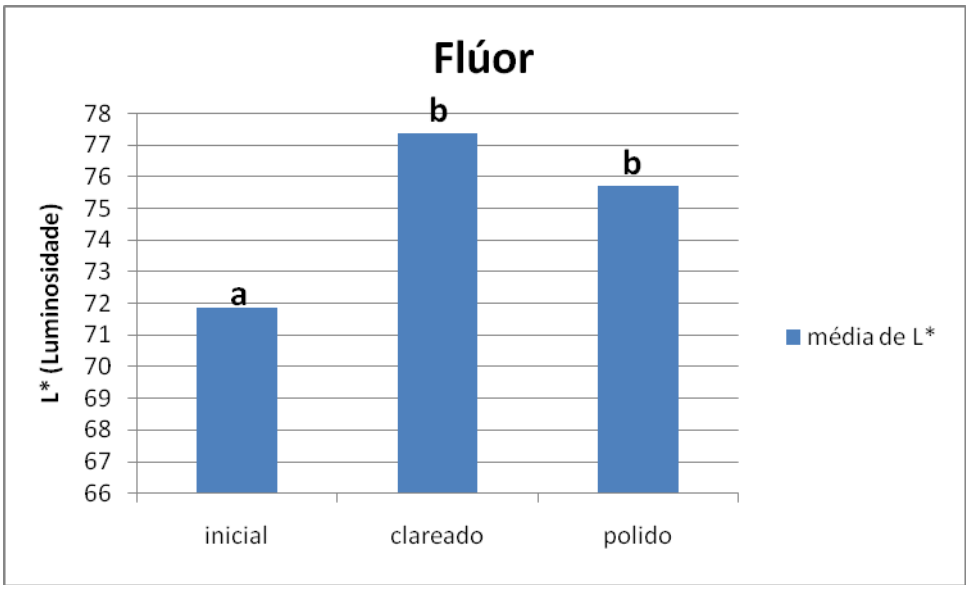

Gráfico 5.9- Comparação da média dos valores de L* do grupo Flúor entre os diferentes tempos experimentais. As letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p<0,001)

Para o grupo nHA, o teste ANOVA aplicado também mostrou que houve diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p=0,000) (Tabela 5.10).

Tabela 5.10- Análise de variância de um fator de medida repetida para L* (Grupo nHA)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	170,638	2	85,319	62,737	0,000	3,634	0,887	1,000
Resíduo	21,759	16	1,360					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;

O teste de múltipla comparação de Tukey mostrou que, no grupo nHA, o valor médio de L* do tempo “inicial” foi estatisticamente diferente quando comparado ao tempo “clareado” e “polido” (Tabela 5.11). Já o valor de L* do tempo “clareado” não diferiu estatisticamente do tempo experimental “polido”. O resultado desta análise está representado nas letras minúsculas acima das barras de L* (Gráfico 5.10).

Tabela 5.11- Tabela de múltipla comparação do teste de Tukey para L* nos tratamentos experimentais do Grupo nHA

	inicial	clareado	polido
Tratamentos	68.3±4.83[a]	74.79±4.32[b]	73.52±4.63[b]

alfa=0.05;
Q(3;16) =3.65;
Resíduo=1.36;
Valor crítico=1.42
Unidade=CIEL*a*b*

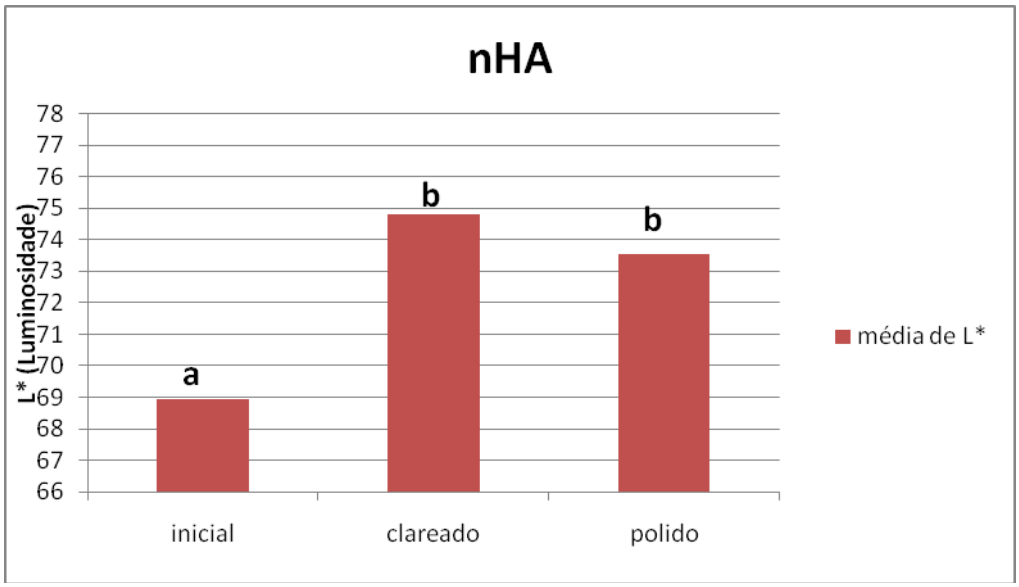

Gráfico 5.10- Comparação da média dos valores de L* do grupo nHA entre os diferentes tempos experimentais. As letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p<0,001)

5.2.2 Cromaticidade (C*)

Através de uma Análise de Variância (ANOVA), foi realizada a comparação entre as médias de C* de cada tempo experimental para cada grupo.

Para o grupo Flúor, a ANOVA mostrou que houve diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p=0,003) (Tabela 5.12).

Tabela 5.12- Análise de variância de um fator de medida repetida para C* (Grupo Flúor)

Fonte de variação	SQ	gl*	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	121,631	1,217	99,903	13,455	0,003	5,117	0,627	0,937
Resíduo	72,319	9,740	7,425					

* ajuste segundo o "ε" de Greenhouse-Geisser
alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;

O teste de múltipla comparação de Tukey mostrou que, no grupo Flúor, o valor médio de C* do tempo “inicial” foi estatisticamente diferente quando comparado

ao tempo “clareado” e “polido” (Tabela 5.13). Já o valor de C* do tempo “clareado” não diferiu estatisticamente do tempo experimental “polido”. O resultado desta análise está representado nas letras minúsculas acima das barras de C* (Gráfico 5.11).

Tabela 5.13- Tabela de múltipla comparação do teste de Tukey para C* nos tratamentos experimentais do Grupo Flúor

	inicial	clareado	polido
Tratamentos	14,55±3,16[a]	9,74±2,05[b]	10,45±2,39[b]

alfa=0.05;
Q(3;16) =3.65;
Resíduo=1.36;
Valor crítico=1.42
Unidade=CIEL*a*b*

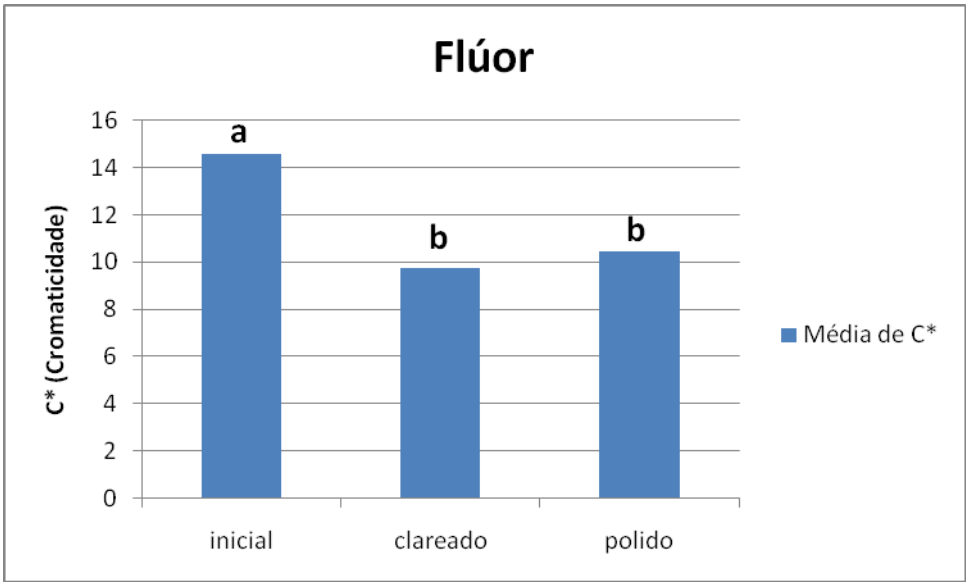

Gráfico 5.11- Comparação da média dos valores de C* do grupo Flúor entre os diferentes tempos experimentais. As letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p<0,001)

Para o grupo nHA, o teste ANOVA aplicado também mostrou que houve diferença estatisticamente significante de C* entre os tempos experimentais (p=0,000) (Tabela 5.14).

Tabela 5.14- Análise de variância de um fator de medida repetida para C* (Grupo nHA)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	93,363	2	46,681	34,500	0,000	3,634	0,812	1,000
Resíduo	21,649	16	1,353					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;

O teste de múltipla comparação de Tukey mostrou que, no grupo nHA, o valor médio de C* do tempo "inicial" foi estatisticamente diferente quando comparado ao tempo "clareado" e "polido" (Tabela 5.15). Já o valor de C* do tempo "clareado" não se diferiu estatisticamente do tempo experimental "polido". O resultado desta análise está representado nas letras minúsculas acima das barras de C* (Gráfico 5.12).

Tabela 5.15- Tabela de múltipla comparação do teste de Tukey para C* nos tratamentos experimentais do Grupo nHA

	inicial	clareado	polido
Tratamentos	14,10±3,61[a]	9,87±2,61[b]	10,52±2,83[b]

alfa=0.05;
Q(3;16) =3.65;
Resíduo=1.36;
Valor crítico=1.42
Unidade=CIEL*a*b*

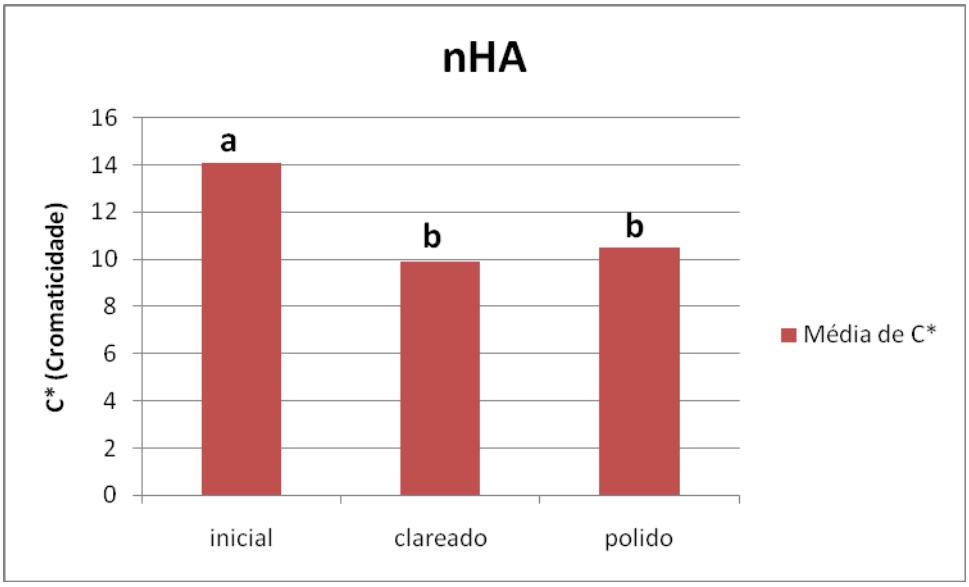

Gráfico 5.12- Comparação da média dos valores de C* do grupo nHA entre os diferentes tempos experimentais. As letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p<0,001)

5.2.3 Diferença de cor (ΔE)

Com os parâmetros de cor obtidos, foi possível determinar a diferença de cor (ΔE). Neste trabalho, o principal interesse foi determinar, em cada grupo, o ΔE entre os seguintes tempos experimentais:

- inicial e clareado: denominado ΔE I-C
- inicial e polido: denominado ΔE I-P.

Os valores de ΔE I-C e ΔE I-P do grupo Flúor estão representados na Tabela 5.16.

Tabela 5.16- Valores de ΔE I-C e ΔE I-P para o grupo Flúor

Amostra	ΔE I-C Flúor	ΔE I-P Flúor
FL 1	10,39	8,98
FL 2	10,03	4,62
FL 3	2,71	2,17
FL 4	12,7	11,78
FL 5	6,87	8,83
FL 6	5,02	3,4
FL 7	7,38	5,55
FL 8	7,11	7,36
FL 9	6,53	4,79

Com estes valores de ΔE I-C e ΔE I-P aplicamos o teste t de Student para comparação entre as duas diferenças de cor. Desta maneira foi possível verificar se houve alteração de cor significante após o polimento com gel de Flúor neutro em relação à alteração de cor do tratamento clareador sem polimento (Tabela 5.17).

Analisando os dados obtidos no teste estatístico, verificou-se que não existiram evidências para rejeitarmos a hipótese de igualdade entre as médias dos dois ΔE comparados. Desta forma, não se pode dizer que as alterações de cor apresentaram comportamentos distintos quando o polimento com gel de Flúor neutro foi realizado ou não.

Tabela 5.17- Teste-t: duas amostras em par para médias de ΔE do grupo Flúor

	*ΔE*ab IC-F*	*ΔE*ab IP-F*
Média	7,64	6,39
Variância	9,03	9,48
Observações	9	9
Correlação de Pearson	0,79	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	8	
Stat t	1,90	
P(T<=t) uni-caudal	0,05	
t crítico uni-caudal	1,86	
P(T<=t) bi-caudal	**0,09**	
t crítico bi-caudal	2,31	

O grupo nHA apresentou valores de ΔE I-C e ΔE I-P conforme tabela 5.18.

Tabela 5.18- Valores de ΔE I-C e ΔE I-P do grupo nHA

Amostra	**ΔE IC-nHA**	**ΔE IP-nHA**
nHA 1	7,22	3,09
nHA 2	10,55	7,06
nHA 3	5,63	4,58
nHA 4	8,19	5,6
nHA 5	7,06	6,29
nHA 6	7,49	7,29
nHA7	6,37	6,5
nHA8	6,39	7,25
nHA 9	7,59	8,5

Da mesma maneira que foi descrita para o grupo Flúor, o teste t de Student foi aplicado para comparar as duas diferenças de cor do grupo nHA (Tabela 5.19). Através deste teste foi verificado que também não existiram evidências para

rejeitarmos a hipótese de igualdade entre as médias dos dois ΔE comparados. Sendo assim, no grupo nHA não se pode dizer que as alterações de cor apresentaram comportamentos distintos quando o polimento com pasta contendo Nano <mHAP> foi realizado ou não.

Tabela 5.19- Teste-t: duas amostras em par para médias de ΔE do grupo nHA

	ΔE IC-nHA	*ΔE IP-nHA*
Média	7,39	6,24
Variância	1,99	2,63
Observações	9	9
Correlação de Pearson	0,26	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	8	
Stat t	1,86	
P(T<=t) uni-caudal	0,05	
t crítico uni-caudal	1,86	
P(T<=t) bi-caudal	**0,10**	
t crítico bi-caudal	2,31	

5.2.4 Alteração do brilho relativo (Gloss)

Através de uma Análise de Variância (ANOVA), foi realizada a comparação entre o valor médio do brilho relativo de cada tempo experimental para cada grupo.

Para o grupo Flúor, a ANOVA mostrou que não houve diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais (p=0,431) (Tabela 5.20). Isso significa que, após o clareamento, os valores de Brilho relativo não foram estatisticamente diferentes dos valores de Brilho relativo inicial; e, após o polimento com Flúor neutro, os valores de Brilho relativo não foram estatisticamente diferentes dos valores de Brilho relativo inicial e clareado para cada amostra (Gráfico 5.13).

Tabela 5.20- Análise de variância de um fator de medida repetida para Brilho relativo (Grupo Flúor)

Fonte de variação	SQ	gl	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	89,372	2	44,686	0,888	0,431	3,634	0,100	0,176
Resíduo	804,961	16	50,310					

alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;

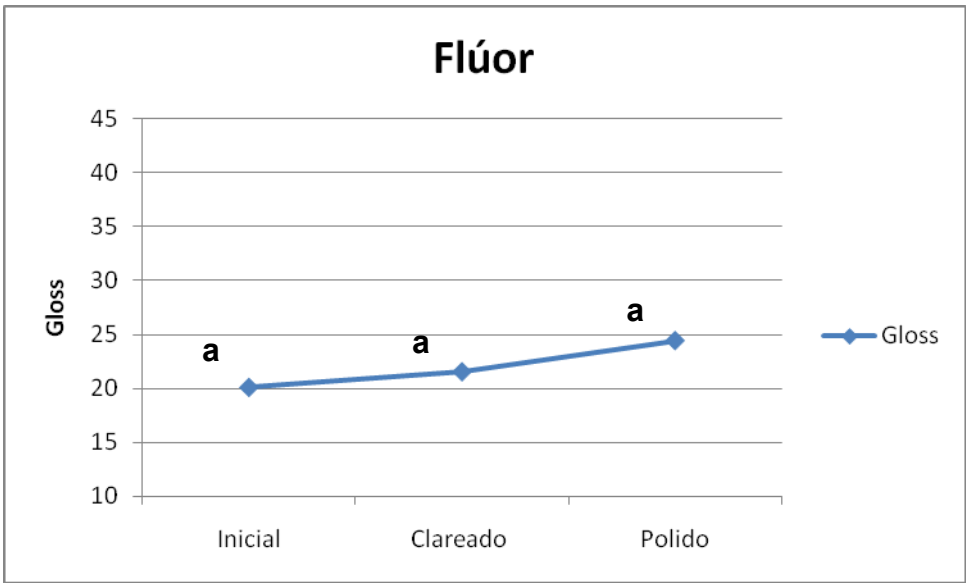

Gráfico 5.13- Comparação da média dos valores de Brilho relativo do grupo Flúor entre os diferentes tempos experimentais, demonstrando não haver diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais

Para o grupo nHA, o teste ANOVA aplicado para comparação do brilho relativo entre os tempos experimentais mostrou que houve diferença estatisticamente significante de brilho entre os tempos experimentais (p=0,001) (Tabela 5.21).

Tabela 5.21- Análise de variância de um fator de medida repetida para Brilho relativo (Grupo nHA)

Fonte de variação	SQ	gl*	QM	F	Sig (p).	F crítico	η^2	Observed Power
Tratamentos	1291,676	1,098	1176,734	24,507	0,001	5,318	0,754	0,994
Resíduo	421,657	8,781	48,017					

* ajuste segundo o "ε" de Greenhouse-Geisser
alfa =0.05;
SQ=Soma dos quadrados (Tipo III);
Gl=Graus de Liberdade;
QM=Quadrado Médio;

O teste de múltipla comparação de Tukey mostrou que, no grupo nHA, o valor médio do Brilho relativo do tempo “inicial” não se diferiu estatisticamente do Brilho relativo do tempo “clareado”. Porém, tanto o tempo “inicial” quanto o tempo “clareado” comportaram-se significativamente diferentes quando comparados ao tempo experimental “polido” (Tabela 5.22). Pela análise do Gráfico 5.14, considerando-se que semelhanças estatísticas estão indicadas pela mesma letra, observa-se que os maiores valores médios de Brilho relativo foram encontrados para o tempo experimental “polido”, especialmente quando comparado ao tempo experimental “clareado”, apresentando diferença estatisticamente significante entre estes tempos experimentais.

Tabela 5.22- Tabela de múltipla comparação do teste de Tukey para Brilho relativo nos tratamentos experimentais do Grupo nHA

	inicial	clareado	polido
Tratamentos	24,46±14,65[a]	23,31±13,4[a]	38,52±17,96[b]

alfa=0.05;
Q(9;3) =3.95;
Resíduo=46,17;
Valor crítico=8,98
Unidade=CIEL*a*b*

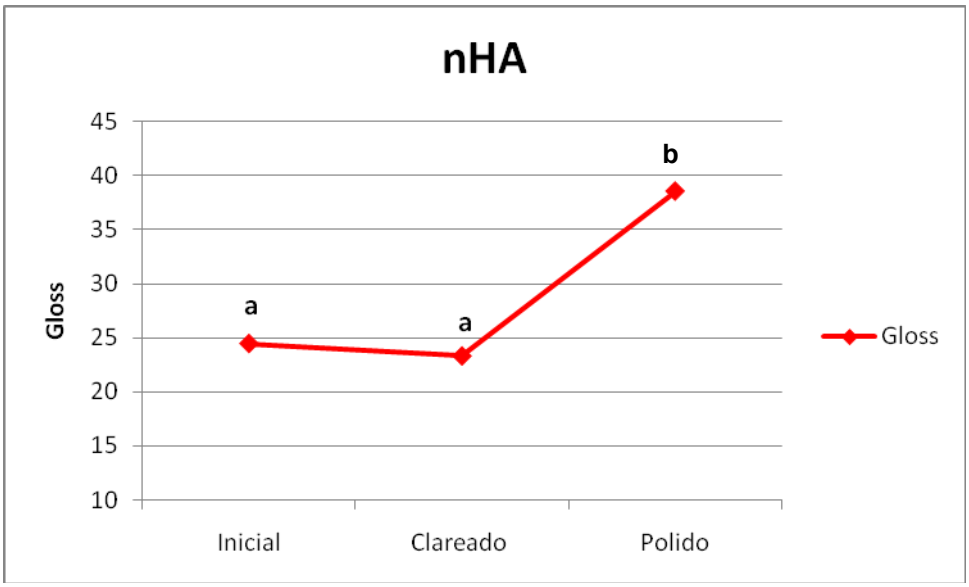

Gráfico 5.14- Comparação da média dos valores de Brilho relativo do grupo nHA entre os diferentes tempos experimentais. As letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais ($p<0,001$)

6 DISCUSSÃO

A procura por tratamentos estéticos em consultórios odontológicos definitivamente tem aumentado, de maneira que o clareamento dental se tornou um procedimento popular. Este procedimento é um tratamento clínico eficiente, porém os efeitos colaterais causados pelos agentes clareadores sobre os tecidos dentais ainda não foram completamente esclarecidos.

Apesar de inúmeros estudos terem investigado a possível formação e manutenção de alterações morfológicas na superfície de esmalte após clareamento, esta questão ainda é controversa. Uma superfície brilhante e perfeitamente lisa são requisitos fundamentais para se atingir a aparência estética desejada. Além disso, estes requisitos precisam ser mantidos por um longo período no ambiente oral. Uma superfície perfeitamente lisa, além de melhorar o aspecto estético, previne a formação de biofilme pigmentado e retenção de placa devido à ausência de micro rugosidades (Kakaboura et al., 2007). O brilho também é uma propriedade importante. Normalmente, superfícies extremamente lisas e polidas apresentam alto valor de brilho.

Este estudo investigou a possível alteração morfológica da superfície de esmalte dental humano após tratamento clareador com peróxido de hidrogênio altamente concentrado utilizando um microscópio de força atômica (MFA). Nas últimas décadas, o MFA tem sido utilizado em pesquisas na área odontológica (Chen et al., 2006; Feninat et al., 2001; Gaikwad e Sokolov, 2008; Hegedüs et al., 1999; Jeng et al., 2008; Kakaboura et al., 2007; Setien et al., 2009). O MFA fornece imagens topográficas tridimensionais detalhadas da rugosidade superficial em resolução nanométrica. Trata-se de uma metodologia não destrutiva, na qual as amostras dispensam qualquer tipo de preparo. Isso permite que uma mesma amostra seja submetida a outros processos experimentais após a avaliação inicial em MFA.

Nesta pesquisa, o MFA mostrou-se um método extremamente sensível para determinar a qualidade superficial das amostras de esmalte dental, não somente nos valores de rugosidade (Ra, RMS e *Z range*) e PSD como na qualidade e resolução das imagens das superfícies (Figuras 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4). Hegedüs et al. (1999), Kakaboura et al. (2007), Pedreira de Freitas et al. (2010), afirmam que o MFA

oferece maior definição nos detalhes topográficos das superfícies analisadas, principalmente quando comparadas às imagens fornecidas pelo microscópio eletrônico de varredura. A microscopia eletrônica de varredura requer algumas condições especiais para a obtenção da imagem, como baixa pressão atmosférica, desidratação e cobertura da amostra com material condutor. Este preparo pode alterar as condições naturais da superfície da amostra, caracterizando uma metodologia destrutiva. Ademais, o microscópio eletrônico de varredura fornece uma imagem bidimensional da superfície, sem a possibilidade de medições quantitativas da rugosidade.

Dentre outros métodos utilizados em nossa pesquisa, a rugosidade superficial foi determinada pelo parâmetro Ra. Apesar de Ra ser considerado um indicador pobre da textura superficial, este é o parâmetro utilizado com maior freqüência para verificar a topografia superficial do substrato dental (Kakaboura et al., 2007). Os resultados desta pesquisa demonstraram que os valores de rugosidade do esmalte não apresentaram diferença significante entre os valores de Ra das amostras clareadas quando foram comparadas a elas mesmas no tempo inicial, tanto no grupo Flúor como no grupo nHA. O grupo Flúor apresentou uma média inicial de Ra de 27,97nm e o grupo nHA apresentou uma média inicial de Ra de 28,52nm (Apêndice A). Estes valores mudaram para 25,28nm e 30,30nm respectivamente após o clareamento com peróxido de hidrogênio 38%, não denotando diferença estatisticamente significante (Tabelas 5.1 e 5.2). Este resultado está de acordo com Cadenaro et al. (2008) que também não observaram alteração significante em Ra de amostras clareadas com o mesmo produto clareador.

Como alguns estudos têm demonstrado o aumento da rugosidade superficial após clareamento, nesta pesquisa a rugosidade superficial de amostras de esmalte também foi observada após o polimento com fluoreto de sódio 2% neutro ou uma pasta dentifrícia contendo partículas de nanohidroxiapatita (nano<mHAP>). Um possível aumento na rugosidade causado por tratamento clareador poderia facilitar a adesão de bactérias cariogênicas, assim como a adesão de biofilme pigmentado, comprometendo o resultado do tratamento estético realizado.

Uma análise da literatura demonstra que a probabilidade de diminuição da microdureza em esmaltes clareados pode ser significativamente reduzida quando aplicações de flúor são administradas após o tratamento clareador (Attin et al., 2009). Alterações na dureza podem causar alterações nas camadas superficiais da

estrutura dental como porosidades e erosões no esmalte. A remineralização feita pela saliva pode não ser completa, deixando áreas susceptíveis a futuras descalcificações e retenção de placa (Lewinstein et al., 2004). Como foi demonstrado por Basting et al. (2003), a saliva é capaz de aumentar a microdureza do esmalte clareado fornecendo íons cálcio e fosfato, porém normalmente a dureza inicial não é completamente restaurada. Desta forma, a aplicação de flúor deve contribuir na reparação de defeitos microestruturais e perda de microdureza do esmalte clareado. Como o efeito do flúor no processo remineralizador dos tecidos dentais já tem sido comprovado, o uso de terapias com flúor combinadas a procedimentos clareadores pode auxiliar a saliva na remineralização destes tecidos. De acordo com uma pesquisa realizada por Martin et al. (2010), a aplicação tópica de flúor após o tratamento clareador é suficiente para a remineralização do esmalte clareado, porém o aumento na rugosidade após clareamento só foi minimizado com a aplicação de fluoreto de sódio 2% neutro.

Observando os valores de Ra do grupo Flúor desta pesquisa, é possível verificar que este parâmetro de rugosidade não alterou com o polimento realizado neste grupo (Apêndice A). A média dos valores de rugosidade após polimento (Ra= 27,23nm) mostrou-se muito semelhante à média de rugosidade das mesmas amostras no seu tempo inicial (Ra=27,97nm) e após o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38% (Ra=25,28nm); de maneira que não houve alteração estatisticamente significante na rugosidade após o polimento com fluoreto de sódio 2% neutro (Tabela 5.1 e Gráfico 5.1).

Em contrapartida, a Nano<mHAP> é uma substância cristalina de fosfato de cálcio, quimicamente semelhante à hidroxiapatita dos dentes. De acordo com a literatura, quando esta hidroxiapatita é fornecida em nanopartículas, ela é capaz de repor a perda mineral e restaurar áreas desmineralizadas da subsuperfície de esmalte (cárie incipiente) além de preencher fissuras microscópicas da superfície. Desta forma, a Nano<mHAP> não age na estrutura química dos cristais de esmalte como os fluoretos, apenas restaura a densidade mineral e lisura superficial (Kim et al., 2006; Lv et al., 2007).

Os valores médios de Ra do grupo nHA diminuíram após o polimento. A média de Ra passou de 30,30nm nas superfícies clareadas para 13,68nm nas superfícies polidas (Gráfico 5.2). Apesar de os valores de Ra do grupo nHA não terem apresentado diferença estatisticamente significante após o polimento com a

pasta contendo Nano<mHAP>, observa-se uma tendência no grupo nHA à diminuição nestes valores de rugosidade onde p=0,059 (Tabela 5.2). Uma deposição de apatita mineral sobre a superfície de esmalte pode ser sugerida nesta pesquisa na qual uma pasta dentifrícia contendo Nano<mHAP> foi utilizada para polimento após tratamento clareador.

Os valores de RMS também não demonstraram diferença estatística se comparado o tempo experimental “inicial” e o tempo “clareado” (Tabelas 5.3 e 5.4). No grupo Flúor, a média inicial de RMS foi 36,10nm (Apêndice A). Após o clareamento, a média de RMS foi de 33,72nm. No grupo nHA pudemos observar uma média de RMS inicial de 36,13nm e após o clareamento esta média alterou para 39,02nm. O fato de os grupos Flúor e nHA apresentarem resultados semelhantes para RMS na comparação dos tempos experimentais “inicial” e “clareado” já era esperado, visto que as amostras dos dois grupos foram submetidas aos mesmos procedimentos neste intervalo.

Observando os valores de RMS do grupo Flúor, ainda é possível verificar que estes parâmetros de rugosidade não alteraram com o polimento. A média dos valores de rugosidade após polimento (RMS=35,13nm) mostrou-se muito semelhante à média de rugosidade das mesmas amostras no seu tempo inicial (RMS=36,10nm) e após o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38% (RMS=33,72nm); de maneira que não houve alteração estatisticamente significante em RMS após o polimento com fluoreto de sódio 2% neutro (Tabela 5.3 e Gráfico 5.3).

A média de RMS das amostras clareadas do grupo nHA passou de 39,02nm para 17,57nm após polimento (Apêndice A). Apesar de os valores RMS do grupo nHA não terem apresentado diferença estatisticamente significante após o polimento com a pasta contendo Nano<mHAP> (Tabela 5.4), observa-se uma tendência no grupo nHA à diminuição nestes valores de rugosidade (Gráfico 5.4). Se observada, a análise estatística denota uma tendência à significância, pois pudemos observar valor de p=0,050 para RMS. Possivelmente, este resultado estatístico foi observado devido ao reduzido número de amostras submetidas à avaliação de rugosidade em MFA.

Os valores de *Z range* também não demonstraram diferença estatística se comparado o tempo experimental “inicial” e o tempo “clareado”. No grupo Flúor, a média inicial de *Z range* foi 304,77nm (Apêndice A). Após o clareamento, a média de

Z range foi para 301,72 neste grupo. No grupo nHA pudemos observar que o *Z range* variou de 282,03nm inicialmente para 321,10nm após o clareamento. Nenhum destes valores apresentou diferença estatística significante entre os tempos “inicial” e “clareado” (Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7). Desta forma, observamos que nenhum dos parâmetros de rugosidade utilizados alterou após o clareamento.

No grupo Flúor, o *Z range* apresentou uma média de 292,91nm após polimento, mostrando-se muito semelhante às médias de rugosidade das mesmas amostras no seu tempo inicial *(Z range*=304,77nm) e após o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38% (*Z range*= 301,72nm) de maneira que não houve alteração estatisticamente significante na rugosidade após o polimento com fluoreto de sódio 2% neutro (Tabela 5.5 e Gráfico 5.5).

Já a análise estatística realizada para *Z range* no grupo nHA mostrou que, após o polimento com pasta contendo Nano<mHAP>, o *Z range* diminuiu significativamente (p=0,033) quando comparado aos valores de *Z range* das amostras clareadas, passando de 321,10nm antes do polimento para 164,53nm após polimento (Tabelas 5.6 e 5.7 e Gráfico 5.6). Como a análise de *Z range* corresponde à diferença pico-vale nos valores de altura da superfície analisada, este resultado sugere que a diminuição de altura pico-vale tenha ocorrido devido a uma deposição de partículas de Nano<mHAP> nas áreas mais profundas da superfície. Apesar de a estrutura de esmalte ser muito densa, a penetração parcial de alguns íons e moléculas através dela é possível, pois esta contém espaços pequenos e inter-cristalinos, bainhas de prismas, trincas no esmalte e outros defeitos (Yamazaki e Margolis, 2008).

A presença de uma fina camada de nanopartículas de hidroxiapatita sobre o esmalte já havia sido observada por Lv et al. (2007) e Yamagishi et al. (2005). Estes autores afirmaram que o tamanho reduzido das partículas promove uma ativação orgânica sobre o esmalte desmineralizado fazendo com que íons de cálcio e fosfato entrem continuamente na superfície de esmalte ocupando regiões que não contém cristais de cálcio, gerando integridade nos cristais.

Roveri et al. (2009), após tratar superfícies de esmalte dental com pastas contendo nanopartículas de 20nm e 100nm de hidroxiapatita, observaram uma camada fina e homogênea de apatita sobre o esmalte previamente desmineralizado. Os autores afirmam que esta camada é menos cristalina que a apatita do esmalte

original, e que consiste em uma nova deposição de apatita mineral que progressivamente preenche as ranhuras e depressões.

O PSD é um método de análise da superfície capaz de determinar a contribuição de diversos comprimentos de onda morfológicos. Os únicos comprimentos de onda morfológicos que poderão interferir na aparência da superfície aos olhos do ser humano, alterando o que podemos chamar de aspecto superficial da amostra, são os comprimentos de onda morfológicos que coincidem com os comprimentos de onda de luz visível (de 400nm a 700nm aproximadamente). Desta maneira, nesta pesquisa optamos por enfatizar o resultado do PSD apenas nos comprimentos de onda capazes de interferir na aparência das amostras.

Na comparação entre o PSD dos tempos experimentais “inicial” e “clareado”, dentro do espectro de luz visível, é possível perceber que as curvas praticamente se sobrepõem, tanto no grupo Flúor (Gráfico 5.7) como no nHA (Gráfico 5.8). Este resultado demonstra que os comprimentos de onda morfológicos se mantiveram praticamente inalterados após o clareamento, não havendo maior ou menor contribuição dos comprimentos de onda após tratamento clareador. O fato de as curvas de PSD terem se comportado de maneira semelhante tanto no grupo Flúor como no grupo nHA nos tempos “inicial” e “clareado”, valida a metodologia do PSD e as medições do MFA (Fang et al., 1997), pois tratavam-se de amostras diferentes, mas que foram submetidas ao mesmo processo experimental.

A comparação feita pelo PSD no grupo Flúor também demonstra que, após o polimento, houve uma pequena diferença na contribuição dos comprimentos de onda (Gráfico 5.7). Esta sutil diferença apresentada no gráfico de PSD não foi detectada matematicamente pelos valores de Ra, RMS e *Z* range. Os menores comprimentos de onda morfológicos dentro do espectro de luz visível, entre 400nm e 500nm, tiveram menor contribuição na formação da topografia superficial das amostras após polimento com flúor; porém esta menor contribuição não foi suficiente para causar alterações morfológicas detectáveis nos valores de rugosidade. Possivelmente, a menor contribuição destes comprimentos de onda representados no gráfico de PSD sejam devido às características superficiais das amostras FL 1 e FL 3 (Figuras 5.1 e 5.3) após polimento, nas quais observamos uma lisura superficial maior, com menor contribuição dos comprimentos de onda morfológicos menores. Este resultado sugere que a remineralização de dentes tratados com fluoreto de sódio 2% neutro seja principalmente baseada em modificações físico-químicas que

ocorrem na superfície da apatita do esmalte ao invés de ocorrer a formação de uma nova deposição mineral (Roveri et al., 2009).

Os compostos fluoretados, como o fluoreto de sódio, não repõem o mineral em si. Eles fortalecem o substrato dental favorecendo a apreensão de cálcio e fosfato provenientes da saliva formando uma nova substância, a fluorapatita, que é mais resistente aos ácidos da placa dental quando comparada à hidroxiapatita original do esmalte (Arnold et al., 2006; Wiegand et al., 2007). A efetividade do tratamento com fluoreto de sódio 2% neutro também foi confirmada por Borges et al. (2010) e Jeng et al. (2008); porém Jeng et al. (2008) observaram que depósitos do produto foram removidos da superfície de esmalte dias ou semanas após a aplicação tópica como conseqüência da escovação ou mastigação. Em nossa pesquisa, a limpeza das amostras em ultra-som após o polimento, provavelmente foi suficiente para remover os depósitos de fluoreto presentes na superfície.

Já o resultado obtido pelo PSD para o grupo nHA descreve que ocorreu uma redução significativa na contribuição de todos os comprimentos de onda, especialmente no que se refere aos comprimentos de onda de luz visível (Gráfico 5.8). As características morfológicas coincidentes com os comprimentos de onda visíveis aparecem em picos menores de freqüência após o polimento com Nano<mHAP>. O PSD do grupo nHA claramente demonstra que as amostras após o polimento tiveram menor freqüência de contribuição dos comprimentos de onda, caracterizando uma superfície mais lisa.

Na literatura, a rugosidade superficial medida pelo MFA normalmente é expressa em parâmetros estatísticos simples, como Ra, RMS, *Z range,* etc. Nestes casos, mais de 250.000 partes de informações (por exemplo: 512 X 512 pontos por imagem) são meramente representados por um único número. Duas imagens com exatamente os mesmos valores de Ra ou RMS podem ter morfologias superficiais diferentes (Fang et al., 1997). Isso ocorre porque análises de rugosidade como Ra, RMS ou *Z range* são sensíveis apenas a estruturas verticais, e não horizontais. Estas informações são extremamente importantes e suficientes quando se quer discutir quanto uma superfície é modificada após determinado tratamento. Porém quando se deseja discutir como esta superfície foi modificada e sua contribuição em outros efeitos físicos ou propriedades do material, tal como o brilho, é preciso avaliar a superfície no sentido horizontal também. O MFA determina informações quantitativas não apenas nos desvios de altura do perfil de rugosidade, mas também

a sua distribuição lateral (a extensão espacial das variações de altura no perfil de rugosidade). Tendo isso em vista, a análise por PSD permite uma descrição mais completa e precisa do que os parâmetros de rugosidade sozinhos (Feninat et al., 2001). Isso também explica a diferença de resultados encontrados na literatura, nos quais autores afirmam haver aumento na rugosidade superficial do esmalte dental após clareamento apenas analisando qualitativamente imagens obtidas em MFA (Hegedüs et al., 1999; Setien et al., 2009).

Os parâmetros estatísticos de Ra, RMS e *Z range* são simples e confiáveis, mas proporcionam informações apenas na direção vertical e conseqüentemente são incapazes de caracterizar totalmente a superfície. Desta maneira, a utilização de parâmetros que ignoram o comprimento de onda espacial para descrever a rugosidade pode apresentar alguns problemas e criar dificuldades em correlacionar a rugosidade às reais características superficiais do substrato. A análise da superfície pelo PSD é uma ferramenta mais acurada para quantificar a superfície do que as medidas de rugosidade de Ra, RMS e *Z range* que são normalmente empregadas (Skolnik et al., 2000).

A análise qualitativa das imagens tridimensionais obtidas em MFA confirmou que as superfícies de esmalte clareadas apresentaram aspecto similar à superfície antes do tratamento clareador (Figuras 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4). As irregularidades observadas nas superfícies clareadas podem ser atribuídas à topografia natural do esmalte, como observado nas imagens do tempo experimental “inicial”, onde nenhum tratamento ainda havia sido realizado. Resultado semelhante foi observado por Cadenaro et al. (2008, 2010) em pesquisas *in vivo*, nas quais os autores afirmam que agentes clareadores em alta concentração parecem não afetar a rugosidade superficial do esmalte, mesmo após repetidas aplicações. Este resultado pode indicar que o uso apropriado de produtos clareadores altamente concentrados não causa danos à microtopografia superficial do esmalte dental. Já Hegedüs et al. (1999) e Setien et al. (2009), apenas analisando qualitativamente imagens obtidas em MFA de esmalte clareado, observaram aumento na rugosidade e criação de alguns sulcos na superfície de esmalte.

Alterações na superfície podem ser atribuídas ao pH ácido dos agentes clareadores (Sulieman et al., 2004). Levando isso em consideração, o pH relativamente neutro do produto testado (aproximadamente 7,0- de acordo com o fabricante) é bem acima do pH crítico capaz de causar desmineralização no esmalte.

Isso pode explicar a ausência de alterações morfológicas superficiais após o tratamento clareador.

As imagens do aspecto topográfico superficial evidenciaram maior lisura superficial nas amostras do grupo nHA após o polimento com pasta contendo Nano<mHAP>, especialmente devido ao aspecto mais liso das amostras (Figura 5.2). A característica topográfica das amostras após polimento na Figura 5.4 confirma o resultado obtido pelo PSD (Gráfico 5.8), onde observamos que ocorreu menor contribuição de todos os comprimentos de onda morfológicos na caracterização da superfície, amenizando a diferença pico-vale e as irregularidades. Os polimentos realizados nesta pesquisa visavam contornar possíveis alterações morfológicas que pudessem ocorrer após tratamento clareador. Apesar destas alterações após clareamento não terem sido confirmadas pelos parâmetros de rugosidade (Ra, RMS, *Z range* e PSD), a pasta dentifrícia contendo partículas de Nano<mHAP> mostrou-se eficiente no polimento superficial de amostras de esmalte.

Além de não causar alterações morfológicas superficiais, o peróxido de hidrogênio 38% mostrou-se eficiente como produto clareador. Os dois atributos que definem se houve um aumento perceptível na claridade dos dentes após procedimento clareador, são as alterações na luminosidade (L*) e no croma (C*).

Quando analisamos as dimensões de cor separadamente, observamos que o valor de L* das amostras aumentou de maneira significante após o tratamento clareador. Este resultado foi observado nos dois grupos experimentais. No grupo Flúor, o valor médio de L* foi de 71,86 inicial e 77,38 após o clareamento (Tabela 5.9), e no grupo nHA, a média de L* passou de 68,30 inicial para 74,79 após o clareamento (Tabela 5.11), apresentando diferença estatisticamente significante nos dois grupos experimentais (Gráficos 5.9 e 5.10). O aumento de L* demonstra um aumento na claridade das amostras. Os valores de L*, obtidos em todas as amostras após o clareamento com peróxido de hidrogênio 38% mantiveram-se praticamente inalterados após o polimento ser realizado tanto com fluoreto de sódio 2% (L*=75,72 ± 1,75) como com pasta dentifrícia contendo Nano<mHAP> (L*=73,52 ± 4,63). Isso denota que os dois tipos de polimento não alteraram a luminosidade do clareamento obtido.

As alterações no croma (C*) se referem à saturação (intensidade) da cor nos eixos cromáticos a* e b*. No grupo Flúor, a média de C* variou de 14,55 inicial para 9,74 após o clareamento (Tabela 5.13). O grupo nHA apresentou resultado muito

semelhante ao observado no grupo Flúor, pois a média de C* inicial do grupo nHA foi de 14,10 e alterou para 9,87 após o clareamento (Tabela 5.15). Isso demonstra que, após o tratamento clareador, todas as amostras apresentaram uma diminuição significante em C*, denotando menor saturação na cor após o clareamento (Tabelas 5.12 e 5.14). Na esfera de cor, os valores de croma (C*) estão ligados aos valores de luminosidade (L*) de forma que, quanto maior a luminosidade, menor é a máxima saturação de cor possível.

Assim como os resultados encontrados para L*, os valores de C* também mantiveram-se praticamente inalterados após o polimento ser realizado. Podemos observar que o valor de C* obtido após clareamento (média de C*=9,74 ± 2,05 para Flúor e C*=9,87 ± 2,61 para nHA), permaneceu após o polimento, seja no grupo Flúor (C*=10,45 ± 2,39) ou no grupo nHA (C*= 10,52 ± 2,83), mostrando que os dois tipos de polimento também não alteraram a saturação de cor obtida após o clareamento.

As alterações de cor observadas após o tratamento clareador podem ser explicadas pela capacidade de redução e oxidação do peróxido de hidrogênio. Este produto é capaz de gerar oxigênio ativo e radicais livres de peridroxil que, através de processos de denaturação e degradação, reagem com as ligações duplas insaturadas dos anéis de carbono da estrutura dental, formando cadeias carbônicas lineares, menos pigmentadas. O resultado clareador observado neste estudo pode ser explicado por reações químicas que ocorrem na estrutura orgânica do substrato dental, visto que não ocorrem alterações físicas ou morfológicas na superfície de esmalte, não alterando a forma de interação da luz com a superfície do dente.

Dabanoglu et al., em 2009, além de observarem a adesão de partículas de nano-hidroxiapatita sobre a superfície de esmalte, observaram um aumento na claridade de amostras após imersão em suspensões com nano-hidroxiapatita. Os autores justificam que uma fina camada presente na superfície de esmalte é responsável em alterar a cor, causando um aumento na claridade das amostras de esmalte submetidas ao contato com partículas de nano-hidroxiapatita. O mesmo resultado não foi encontrado nesta pesquisa, onde os valores de L* e C* após polimento não foram estatisticamente diferentes dos valores de L* e C* observados após clareamento nos dois grupos experimentais.

O ΔE retrata a alteração de cor total da amostra, incluindo as três dimensões de cor do sistema CIEL*a*b*. Um ΔE abaixo de 1 é considerado visualmente

imperceptível, enquanto valores acima de 3,3 são considerados visualmente perceptíveis ou clinicamente significantes. Neste trabalho, a diferença de cor entre a amostra clareada e sua cor inicial foi observada. As amostras apresentaram uma alteração de cor perceptível após o clareamento (ΔE I-C) de maneira que apenas uma amostra do grupo Flúor apresentou ΔE I-C abaixo de 3,3 (Tabela 5.16). Todas as outras amostras, tanto do grupo Flúor como nHA, apresentaram ΔE I-C acima de 5 denotando alterações de cor perceptíveis após o clareamento (Tabelas 5.16 e 5.18).

Ainda foi possível observar que a diferença de cor encontrada entre todas as amostras no seu tempo “inicial” e “após polimento” (ΔE I-P) não diferiu estatisticamente da diferença de cor encontrada entre as amostras no seu tempo “inicial” e “após clareamento” (ΔE I-C) (p=0,09 para grupo Flúor e p=0,10 para grupo nHA- Tabelas 5.17 e 5.19). Isso significa que o polimento com gel de fluoreto de sódio 2% neutro ou com pasta dentifrícia contendo Nano<mHAP> não alterou a cor das amostras após o clareamento, mantendo o resultado clareador obtido com o peróxido de hidrogênio 38%.

Apesar de a cor não estar diretamente relacionada com o brilho, é muito difícil separar os atributos visuais de um dado objeto, e a percepção visual dos mesmos quase sempre relacionam a cor com o brilho e a textura (Lozano, 1978).

Como a cromaticidade de uma amostra depende somente das características espectrais da luz que a ilumina, ela deveria estar desprovida de outros agregados como o brilho, que perturbam a medição. Por outro lado, o brilho é um atributo do objeto que nem sempre é possível separá-lo da cromaticidade. Incluir o componente especular em uma medição de reflectância espectral de uma amostra brilhante ou semi-brilhante, significa aumentar a medição em todo o espectro que não depende da cor da amostra, porém na verdade, o que está se medindo é a cor mais o brilho da amostra.

Neste estudo, não foi possível observar diferença estatisticamente significante no brilho das amostras antes e após o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38%. No grupo Flúor, a média de brilho relativo inicial observado nas amostras foi de 20,08. Esta média alterou para 21,55 após o tratamento clareador (Apêndice D). No grupo nHA, a média de brilho relativo mudou de 24,46 inicial para 23,31 após clareamento (Apêndice E). Este resultado confirma o que foi observado no resultado de PSD, no qual as amostras não demonstraram alteração de

rugosidade superficial após tratamento clareador. Por estes resultados podemos sugerir que a interação da luz com a superfície das amostras foi igual, antes e após clareamento.

Para definir a aparência dos objetos existem atributos cromáticos e atributos geométricos. Enquanto os atributos cromáticos estão associados à cor, os atributos geométricos normalmente estão associados às propriedades da superfície como a rugosidade e o brilho. O olho humano, em sua condição de instrumento sensível, é capaz de detectar efeitos que são impossíveis de serem avaliados por instrumentos, dessa maneira, o brilho que aqui se descreve, serve apenas como um modo objetivo para estabelecer uma comparação entre o que o observador vê e o que o instrumento mede. Sendo assim, os atributos geométricos (rugosidade e brilho) das amostras não alteraram após o clareamento.

Neste estudo, os valores de claridade (L*) e croma (C*) praticamente não alteraram após o polimento, seja com fluoreto de sódio 2% neutro ou com pasta contendo Nano<mHAP>, porém o brilho relativo apresentou alteração significante. O grupo Flúor, não apresentou alteração estatisticamente significante ($p=0,43$) do brilho relativo da superfície das amostras quando comparados os tempos “inicial”, “clareado” e “polido” (Tabela 5.20 e Gráfico 5.13). Já o grupo nHA apresentou um aumento significante ($p<0,001$) no brilho relativo das amostras após o polimento (Tabela 5.21), que passou de uma média de 23,31 pós-clareamento para 38,52 pós-polimento (Tabela 5.22 e Gráfico 5.14). Este resultado mostrou uma correlação entre o brilho relativo e a rugosidade superficial do esmalte dental. Esta correlação entre a rugosidade superficial e a percepção de brilho pode ser feita, sugerindo que uma avaliação subjetiva do brilho seja fortemente influenciada pela topografia superficial. Uma correlação inversa do brilho com a rugosidade superficial também foi encontrada por Paravina et al. (2004) que observaram que a diferença de cor após o polimento foi considerada insignificante, principalmente do ponto de vista clínico, porém os autores observaram grande alteração no brilho superficial das amostras após o polimento.

O brilho é um fenômeno óptico que descreve a aparência e a capacidade da superfície em refletir a luz direta. Normalmente, o brilho é utilizado como um critério para avaliar a qualidade de um material, especialmente quando a aparência estética é importante. A sensação de brilho é influenciada por diversos fatores: as propriedades da superfície, o tipo de iluminante e o observador (Yalcin; Gürgan,

2005). Neste estudo, um espectrofotômetro foi utilizado para determinar o brilho de maneira que o tipo de iluminante e o observador foram constantes. Sendo assim, as propriedades da superfície foram os fatores que tiveram maior influência na determinação do brilho.

A medição dos parâmetros de brilho está diretamente relacionada com a qualidade da superfície (Boeckler, 1995). A textura superficial controla o grau de espalhamento ou reflexão da luz emitida sobre a superfície do dente. O resultado observado na análise de PSD do grupo nHA sugere que as características morfológicas com comprimentos de onda dentro do espectro visível, interajam com a luz visível sendo então responsáveis pelas propriedades ópticas da superfície, como o brilho. Alterações nos comprimentos de onda morfológicos da superfície, na mesma ordem de magnitude dos comprimentos de onda de luz visível, são responsáveis por alterações “visuais”, como alterações no brilho, considerando que o brilho, além de um atributo geométrico, é uma propriedade óptica que é baseada na interação da luz com as características físicas da superfície.

Este estudo mostrou que a pasta dentifrícia contendo partículas de Nano<mHAP> foi eficiente na obtenção de uma lisura superficial e aumento do brilho da superfície de esmalte após o tratamento clareador, e pode ser um aliado aos procedimentos de clareamento, melhorando o desempenho estético do tratamento clareador (Takikawa et al., 2006).

Tendo ciência de que resultados de estudos *in vitro* não possam ser extrapolados para condições *in vivo* de maneira que estes resultados devam ser analisados com reservas, os achados obtidos em nossa pesquisa permitem afirmar que o polimento da superfície de esmalte com pastas que contenham nano-partículas de hidroxiapatita após tratamento clareador é uma ferramenta eficiente e conservadora a ser considerada nos tratamentos estéticos.

7 CONCLUSÕES

A análise dos dados coletados neste estudo, obtidos pela metodologia descrita, nos permite concluir que:

7.1 Quanto à rugosidade

1) O tratamento clareador de superfícies de esmalte dental humano com peróxido de hidrogênio 38%, não causou alterações na rugosidade superficial do esmalte.

2) O polimento de superfícies de esmalte dental humano clareadas com peróxido de hidrogênio 38%, realizado com gel de fluoreto de sódio 2% neutro, não alterou a rugosidade superficial do esmalte dental.

3) O polimento de superfícies de esmalte dental humano clareadas com peróxido de hidrogênio 38%, realizado com pasta dentifrícia contendo partículas de nanohidroxiapatita, alterou a rugosidade superficial do esmalte dental, promovendo maior lisura superficial.

7.2 Quanto à alteração de cor e brilho

1) O tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38% alterou a cor de amostras de esmalte dental humano, aumentando a luminosidade e diminuindo a saturação.

2) O tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38% não alterou o brilho superficial de amostras de esmalte dental humano.

3) O polimento com fluoreto de sódio 2% neutro de amostras de esmalte dental humano clareadas, não alterou sua cor nem seu brilho superficial.

4) O polimento com pasta dentifrícia contendo partículas de nanohidroxiapatita de amostras de esmalte dental humano clareadas, não alterou sua cor, mas aumentou seu brilho superficial.

7.3 Quanto à correlação rugosidade, cor e brilho

1) Existe uma correlação inversa do brilho com a rugosidade superficial do esmalte dental, porém alterações de cor não estão relacionadas à alteração de rugosidade.

REFERÊNCIAS[1]

Agostinho FLF, Guimarães RP, Vicente da Silva CH. Alteração na microestrutura do esmalte pós-clareamento. Int J Dent. 2003;2(2):273-8.

Akal N, Over H, Olmez A, Bodur H. Effects of carbamide peroxide containing bleaching agents on the morphology and subsurface hardness of enamel. J Clin Pediatr Dent. 2001;25(4):293-6.

Ambard AJ, Mueninghoff L. Calcium phosphate cement: review of mechanical and biological properties. J Prosthodont. 2006;15:321-8.

Arnold WH, Dorow A, Langenhorst S, Gintner Z, Bánóczy J, Gaengler P. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. BMC Oral Health. 2006;15:6:8.

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

Attin T, Müller T, Patyk A, Lennon AM. Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel. Oper Dent. 2004;29:188–95.

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.

Attin T, Vollmer D, Wiegand A, Attin R, Betke H. Subsurface microhardness of enamel and dentine after different external bleaching procedures. Am J Dent. 2005;18:8-12.

Azer SS, Machado C, Sanchez E, Rashid R. Effect of home bleaching systems on enamel nanohardness and elastic modulus. J Dent. 2009;37(3):185-90.

Basting RT, Rodrigues AL, Serra MP. The effect of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. J Am Dent Assoc. 2003;134:1335-42.

[1] De acordo com Estilo Vancouver

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

Boeckler GK. Measurement of gloss and reflection properties of surfaces. Met Finish. 1995;93(5):28-31.

Borges AB, Yui KCK, D'Avila TC, Takahashi CL, Torres CRG, Borges ALS. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. Oper Dent. 2010;35(2):180-6.

Cadenaro M, Breschi L, Nucci C, Antoniolli F, Visintini E, Prati C, Matis BA, Di Lenarda R. Effect of Two In-office Whitening Agents on the Enamel Surface In Vivo: A Morphological and Non-contact Profilometric Study. Oper Dent. 2008; 33(2):127-34.

Cadenaro M, Navarra CO, Mazzoni A, Nucci C, Matis BA, Di Lenarda R, Breschi L. An in vivo study of the effect of a 38 percent hydrogen peroxide in-office whitening agent on enamel. J Am Dent Assoc. 2010;141(4):449-54.

Cavalli V, Arrais CAG, Giannini M, Ambrosano GMB. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. J Oral Rehabil. 2004;31:155-9.

Chen H, Czajka-Jakubowska A, Spencer NJ, Mansfield JF, Robinson C, Clarkson BH. Effects of systemic fluoride and *in vitro* fluoride treatment on enamel crystals. J Dent Res. 2006;85(11):1042-5.

Chistoffersen J, Christoffersen MR, Kibalczyc W, Perdok WG. Kinetics of dissolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. Acta Odontol Scand. 1988;46:325-36.

Çobankara FK, Ünlü N, Altinöz HC, Özer F. Effect of home bleaching agents o the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. Int Den J. 2004;54:211-8.

Commission Internationale de L'Eclairage. The L*a*b* system. Wien, Austria: Commission Internationale de L'Eclairage; 1976.p.10-7.

Cruz R, Ogaard B, Rölla G. Uptake of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF solution in vitro. Scand J Dent Res. 1992;100:154-8.

Cruz R, Rölla G. Deposition of alkali-soluble fluoride on enamel surface with or without pellicle. Scand J Dent Res. 1991;99:96-9.

da Costa JB, Mazur RF. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an in vitro study. Oper Dent. 2007;32:589–94.

Dabanoglu A, Wood C, Garcia-Godoy F, Kunzelmann KH. Whitening effect and morphological evaluation of hydroxyapatite materials. Am J Dent. 2009;22(1):23-9.

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

Dalal EN, Natale-Hoffman KM. The effect of gloss on color. Col Res Appl. 1999;24:369-76.

De Cara AA. Estudo *in vitro* da influência do clareamento e de duas técnicas restauradoras na resistência à compressão de dentes tratados endodonticamente [tese].São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia;1996.

Dutra RA, Branco JR, Alvim HH, Poletto LT, Albuquerque RC. Effect of hydrogen peroxide topical application on the enamel and composite resin surfaces and interface. Indian J Dent Res. 2009;20(1):65-70.

Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zonnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. Quintessence Int. 1996;27(1):53-6.

Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zonnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. Quintessence Int. 1996;27(1):53-6.

Fang SJ, Haplepete S, Chen W, Helms CR. Analyzing atomic force microscopy images using spectral methods. J Appl Phys. 1997;82(12):5891-8.

Faraoni-Romano JJ, Turssi CP, Serra MC. Concentration dependent effect of bleaching agents on microhardness and roughness of enamel and dentin. Am J Dent. 2007;20:31–4.

Feninat F El, Elouatik S, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Quantitative assessment of surface roughness as measured by AFM: application to polished human dentin. Appl Surf Sci. 2001;183:205-15.

Fondriest J. Shade matching in restorative dentistry: the science and strategies. Int J Periodontics Restorative Dent. 2003;23(5):467-79.

Gaikwad RM, Sokolov I. Silica nanoparticles to polish tooth surfaces for caries prevention. J Dent Res. 2008;87(10):980-3.

Gavrila R, Dinescu A, Mardare D. A Power spectral density study of thin films morphology based on AFM profiling. Romanian J Inform Sci Tech. 2007;10(3):291-300.

Generosi A, Rau JV, Rossi-Albertini V, Paci B. Crystallization processo f carbonate substituted hydroxyapatite nanoparticles in tooth pastes upon physiological conditions: an in situ time-resolved X-ray diffraction study. J Mater Sci: Mater Med. 2010;21(2):445-50.

Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. Clin Oral Invest. 2010;14:1-10.

Habelitz S. Marshall SJ, Marshall GW, Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometer scale. Arch Oral Biol. 2001;46(2):173-83.

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

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, Forjanic M, Rousson V. Surface roughness and gloss of dental material as a function of force and polishing time in vitro. Dent Mater. 2006;22:146-65.

Horcas I, Fernandez R, Gomez-Rodriguez JM, Colchero J, Gomez-Herrero J, Baro AM. WSXM: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. Ver Sci Instrum. 2007;78,013705. DOI: 10.1063/1.2432410

Jeng YR, Lin TT, Wong TY, Chang HJ, Shieh DB. Nano-mechanical properties of fluoride-treated enamel surfaces. J Dent Res. 2008;87(4):381-5.

Jiang T, Ma X, Wang Z, Tong H, Hu J, Wang Y. Beneficial effects of hydroxyapatite on enamel subjected to 30% hydrogen peroxide. J Dent. 2008;36:907-14.

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

Justino LM, Tames DR, Demarco FF. In situ and in vitro effects of bleaching with carbamide peroxide on human enamel. Oper Dent. 2004;29(2):219-225.

Kakaboura A, Fragouli M, Rahiotis C, Silikas N. Evaluatio of surface characteristics of dental composites using profilometry, scanning electron, atomic force microscopy and gloss-meter. J Mater Sci: Mater Med. 2007;18:155-63.

Kawamata H, Fujita K, Ishizaki T, Hayman R, Ikemi T. A new restoring agent for use after bleaching. 82nd General Session & Exhibition of the IADR; 2004 Mar 10-13; Hawaii.

Kim BI, Jeong SH, Jang SO, Kim KN, Kwon HK, Park YD. Whitening effect of toothpastes containing nano-hydroxyapatite. Key Engin Mater. 2006;309(311):541-4.

Kwon YH, Huo MS, Kim KH, Kim SK, Kim YJ. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. J Oral Rehabil. 2002;29(5):473-7.

Leandro GAL, Attia ML, Cavalli V, Rego MA, Liporoni PCS. Effects of 10% carbamide peroxide treatment and sodium fluoride therapies on human enamel surface microhardness. Gen Dent. 2008:56(3);274-7.

Lee KH, Kim HI, Kim KH, Kwon YH. Mineral loss from bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. J Oral Rehabil. 2006;33(3):229-33.

Leonard RH, Eagle JC, Garland GE, Matthews KP,Rudd AL, Phillips C. Nightguard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. J Esthet Rest Dent. 2001;13(2):132-9.

Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. J Prosthet Dent. 2004;92:337–42.

Lozano RD. La colorimetria industrial : brillo. In: Lozano RD. El color y su medición- con una introducción a la óptica fisiológica y al studio de la visión. Buenos Aires: Editorial American Lee; 1978. p.361-8.

Lv K, Zhang J, Meng X, Li X. Remineralization effect of the nano-HA toothpaste on artificial caries. Key Eng Mater. 2007;330(Pt.1,Bioceramics):263-6.

Majeed A, Grobler SR, Moola MH, Rssouw RJ, van Kotze TJ. Effect of four different opalescence tooth-whitening products on enamel microhardness. SADJ. 2008;63(5):282-4,286.

Makarenko AV, Shaykevich IA. Dependence of the whiteness of paper on surface roughness and illumination conditions. Col Res Appl. 2000;25:170-5.

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

Martin JMH, Almeida JB, Rosa EAR, Soares P, Torno V, Rached RN, Mazur RF. Effect of fluoride therapies on the surface roughness of human enamel exposed to bleaching agents. Quintessence Int. 2010;41(1):71-8.

Matis BA, Cochran MA, Eckert G. Review of the effectiveness of various tooth whitening systems. Oper Dent. 2009;34(2):230-5.

Meng XC, Li XY, Lu KL. Study of Nano-Hydroxyapatite on the remineralization of dismineralized teeth. Mater Sci F. 2005; 475: 2423-6.

Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects- a review. Quintessence Int. 2008:39(8);645-59.

Mohd-Janurudin J, Ozeki K, Aoki H, Fukui Y. Preparation of a hydroxyapatite and hydrogen peroxide composite for tooth whitening. Bio-Med Mater Eng. 2007;17:69-75.

Moraes RR, Marimon JLM, Schneider LFJ, Correr Sobrinho, L, Camacho GB, Bueno M. Carbamide peroxide bleaching agents: effect on surface roughness of enamel, coposite and porcelain. Clin Oral Invest. 2006;10:23-8.

Nelson DG, Jongebloed WL, Arends J. Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. J Dent Res. 1983;62:1201-8.

Nishio M, Fujita K, Ishizaki T, Hayman R. Post-bleach satin inhibition by nano-hydroxyapatite: a cyclical staining test. IADR General Session & Exhibition; 2006, June 28 – July 1; Brisbane Convention & Exhibition Centre Hall 1.

Niwa M, Sato T, Li W, Aoki H, Aoki H, Daisaku T. Polishing and whitening properties of toothpaste containing hydroxyapatite. J Mater Sci Mater Med. 2001;12:277-81.

O'Brien WJ, Johnston WM, Fanian F, Lambert S. The surface roughness and gloss of composites. J Dent Res. 1984;63(5):685-8.

Ogiwara M, Miake Y, Yanagisawa T. Changes in dental enamel crystals by bleaching. J Hard Tissue Biol. 2008;17(1):11-6.

Oltu U, Gürgan S. Effects of three concentrations of carbamide peroxide on the structure of enamel. J Oral Rehabil. 2000;27(4):332-40.

Oshiro M, Kurokawa H, Ando S, Irokawa A, Miyazaki M, Platt JA. The effect of bleaching on the elastic modulus of bovine enamel. Dent Mater J. 2007;26:409–13.

Palazzo B, Iafisco M, Laforgia M, Margiotta N, Natile G, Bianchi CL, Walsh D, Mann S, Roveri N. Biomimetic hydroxiapatite-drug nanocrystals as potencial bone substitutes with antitumor drug delivery properties. Advan Funct Mater. 2007;17(13):2180-8.

Paravina RD, Roeder L, Lu H, Vogel K, Powers JM. Effect of finishing and polishing procedures on surface roughness, gloss and color of resin-based composites. Am J Dent. 2004;17(4):262-6.

Pedreira de Freitas AC, Espejo LC, Botta SB, Teixeira FS, Luz MAAC, Garone –Netto N, Matos AB, Salvadori MBS. AFM analysis of bleaching effects on dental enamel microtopography. Appl Surf Sci. 2010;256:2915-9.

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

Pugh JrG, Zaidel L, Lin N, Stranick M, Bagley D. High levels of hydrogen peroxide in overnight tooth-whitening formulas: effects on enamel and pulp. J Esthet Rest Dent. 2005;17(1):40-5.

Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. Caries Res. 2004;38:268-76.

Robinson C, Yamamoto K, Connell SD, Kirkham J, Nakagaki H, Smith AD. The effects of fluoride on the nanostructure and surface pK of enamel crystals: an atomic force microscopy study of human and rat enamel. Eur J Oral Sci. 2006;114(Suppl.1):99-104.

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

Roveri N, Battistella E, Bianchi CL, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, Naldoni A, Palazzo B, Rimondini L. Surface enamel remineralization: biomimetic apatite nanocrystals and fluoride íons different effects. J Nanomater. 2009. DOI: 10.1155/2009/746383.

Roveri N, Battistella E, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, Lelli M, et al. Synthetic biomimeticcarbonate-hydroxyapatite microparticles for enamel remineralization. Adv Mater. Res 2008;47-50:821-4.

Saxegaard E, Rölla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. Scand J Dent Res. 1988;96:523-35.

Setien V, Roshan S, Cala C, Ramirez R. Pigmentation susceptibility of teeth after bleaching with 2 systems: an in vitro study. Quintessence Int. 2009;40:47-52).

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

Skolnik AM, Hughes WC, Augustine BH. A metallic surface corrosionstudy in aqueous NaCl solutions using atomic force microscopy (AFM). Chem Educ. 2000;5(1):8-13.

Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. A safety study on vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. J Dent. 2004;32(7):581-90.

Takikawa R, Fujita K, Ishizaki T, Hayman RE. Restoration of post-bleach enamel gloss using a non-abrasive, nano-hydroxyapatite conditioner. 84th General Session & Exhibition of the IADR; 2006. June 28-July 1.

Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. Br Dent J. 2006;200(7):371-6.

Ulukapi H. Effect of different bleaching technique on enamel surface microhardness. Quintessence Int. 2007;38:201-5.

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.

Wiegand A, Schreier M, Attin T. Effect of different fluoridation regimens on the microhardness of bleached enamel. Oper Dent. 2007;32(6):610-5.

Yalcin F, Gürgan S. effect of two different bleaching regimens on the gloss of tooth colored restorative materials. Dental Mater. 2005;21:464-8.

Yamagishi K, Onuma K, Suzuki T, Okada F, Tagami J, Otsuki M, et al. A synthetic enamel for rapid tooth repair. Nature. 2005;433:819.

Yamazaki H, Margolis HC. Enhanced enamel remineralization under acidic condition in vitro. J Dent Res. 2008;87:569-74.

Yeh ST, Su Y, Lu YC, Lee SY. Surface changes and acid dissolution after enamel carbamide peroxide bleaching treatment. Oper Dent. 2005;30(4):507-15.

APÊNDICE A - Valores de rugosidade Ra, RMS e Z range e médias determinados pelo microscópio de força atômica

VALORES DE RUGOSIDADE (Ra, RMS e Z *range*)

		Janela	Amostra	Ra (nm)	RMS (nm)	Z range (nm)
Inicial	FLÚOR	10µm	FI1	31,73	40,00	279,23
			FI2	21,51	27,35	182,54
			FI3	25,48	32,21	249,79
			FI4	33,18	44,84	507,52
			Média	27,97	36,10	304,77
	nHA	10µm	nHA1	36,10	44,17	273,45
			nHA2	27,86	34,72	241,13
			nHA3	25,89	33,89	342,91
			nHA4	24,25	31,75	270,64
			Média	28,52	36,13	282,03

		AMOSTRA		Ra (nm)	RMS (nm)	Z range (nm)
pós-clareamento	FLÚOR	10µm	FI1	31,53	39,59	283,13
			FI2	18,31	23,86	194,18
			FI3	25,00	34,99	374,70
			FI4	26,31	36,44	354,87
			Média	25,28	33,72	301,72
	nHA	10µm	nHA1	27,86	35,21	230,93
			nHA2	19,44	25,58	247,46
			nHA3	40,74	51,73	444,24
			nHA4	33,18	43,59	361,78
			Média	30,30	39,02	321,10

		AMOSTRA		Ra (nm)	RMS (nm)	Z range (nm)
pós-polimento	FLÚOR	10µm	FI1	23,60	31,85	309,79
			FI2	13,31	17,24	143,75
			FI3	51,34	65,23	438,17
			FI4	20,69	26,22	279,94
			Média	27,23	35,13	292,91
	nHA	10µm	nHA1	8,18	10,81	101,37
			nHA2	23,03	29,60	228,07
			nHA3	13,91	17,41	147,00
			nHA4	9,61	12,49	181,69
			Média	13,68	17,57	164,53

APÊNDICE B - Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, para verificar distribuição das variáveis de rugosidade (Ra, RMS e *Z range)*, onde apenas as amostras que foram analisadas em MFA estão envolvidas (n=4)

	Kolmogorov-Smirnov		
Zrange_NHA	Statistic	df	Sig.
Gloss_NHA	,176	12	,200
Zrange_Fluoride	,152	12	,200
Gloss_Fluoride	,146	12	,200
Ra_NHA	,168	12	,200
Ra_Fluoride	,122	12	,200
Rms_NHA	,188	12	,200
Rms_Fluoride	,126	12	,200
	,174	12	,200

APÊNDICE C - Teste de Homogeneidade (Teste de Esfericidade de Mauchly) das variáveis de rugosidade (Ra, RMS e *Z range)*, onde apenas as amostras que foram analisadas em MFA estão envolvidas (n=4)

Testes de Esfericidade de Mauchly – Testes de Homogeneidade

					Epsilon[b]		
Variáveis	**Mauchly's W[a]**	**χ^2 Aprox.**	**gl**	**sig. (p)**	**Greenhouse-Geisser**	**Huynh-Feldt**	**Lower-bound**
Ra (NHA)	0.84	0.34	2	0.844	0.87	1.00	0.50
Ra (Flúor)	0.07	5.29	2	0.071	0.52	0.55	0.50
Rms (NHA)	0.78	0.50	2	0.779	0.82	1.00	0.50
Rms (Flúor)	0.05	6.03	2	0.049*	0.51	0.53	0.50
Z range (NHA)	0.62	0.94	2	0.624	0.73	1.00	0.50
Z range (Flúor)	0.08	4.96	2	0.084	0.52	0.56	0.50

a.Testa a hipótese nula de que as variâncias entre as diferenças dos pares (níveis) de tratamentos são constantes (homogenias).
b.No caso de significância de “W”, podem ser utilizados para ajustar os graus de liberdade do teste F.

APÊNDICE D - Valores de L*, a*, b*, C*, ΔL, ΔE e gloss determinados pelo espectrofotômetro para o grupo Flúor

		L*	a*	b*	C*	ΔL*	ΔE	Gloss
FL1	inicial	74,83	0,37	19,73	19,74			18
	clareado	78,96	-0,44	10,23	10,24	4,13	10,39	23,4
	polido	74,55	0,15	10,76	10,76	-0,28	8,98	48,5
FL2	inicial	69,2	1,26	14,4	14,46			37,8
	clareado	77,13	0,16	8,36	8,36	7,93	10,03	28
	polido	72,47	0,69	11,19	11,21	3,27	4,62	24,4
FL3	inicial	74,57	-0,29	9,6	9,61			19,7
	clareado	76,9	-0,16	8,21	8,22	2,33	2,71	23,5
	polido	76,04	0,12	8,06	8,06	1,47	2,17	31,9
FL4	inicial	72,06	0,32	16,28	16,28			15,1
	clareado	79,59	-0,55	6,09	6,12	7,53	12,7	26,9
	polido	77,33	-0,37	5,76	5,77	5,27	11,78	14,4
FL5	inicial	68,49	0,65	17,29	17,3			6
	clareado	73,48	0,56	12,57	12,58	4,99	6,87	8,7
	polido	75,01	-0,1	11,37	11,37	6,51	8,83	5,5
FL6	inicial	72,89	0,42	10,5	10,51			33,2
	clareado	77,85	0,02	9,85	9,85	4,97	5,02	30,8
	polido	75,97	-0,42	11,65	11,66	3,09	3,4	30,9
FL7	inicial	72,6	1,22	13,86	13,91			9
	clareado	78,43	0,12	9,47	9,47	5,82	7,38	9,7
	polido	77,45	-0,36	11,67	11,68	4,85	5,55	18,3
FL8	inicial	68,64	1,2	13,68	13,73			22,9
	clareado	74,81	0,25	10,28	10,29	6,18	7,11	19,7
	polido	74,64	0,29	9,53	9,53	6	7,36	20,5
FL9	inicial	73,44	-0,09	15,48	15,48			19,1
	clareado	79,27	-0,25	12,52	12,53	5,82	6,53	23,3
	polido	78,01	-0,32	14,07	14,07	4,57	4,79	25,8
Média	Inicial	71,86			14,55			20,08
	Clareado	77,38			9,74			21,55
	polido	75,72			10,45			24,46

APÊNDICE E - Valores de L*, a*, b*, C*, ΔL, ΔE e gloss determinados pelo espectrofotômetro para o grupo nHA

		L*	a*	b*	C*	ΔL*	ΔE	Gloss
nHA1	inicial	67,44	3,01	15,01	15,31			46,3
	clareado	72,44	1,53	10,01	10,13	5	7,22	45,8
	polido	69,46	1,04	13,75	13,79	2,02	3,09	61,6
nHA2	inicial	61,68	2,26	17,47	17,61			48
	clareado	69,03	0,64	10,08	10,1	7,35	10,55	43,6
	polido	65,16	1,03	11,46	11,5	3,48	7,06	68,9
nHA3	inicial	74,6	0,04	11,83	11,83			28,7
	clareado	79,09	-0,3	8,45	8,45	4,49	5,63	25,2
	polido	76,85	-0,04	7,84	7,84	2,25	4,58	32,7
nHA4	inicial	75,94	0,46	16,78	16,79			25,2
	clareado	82,43	-1,18	12,07	12,13	6,49	8,19	26,5
	polido	78,96	-0,67	12,2	12,22	3,02	5,6	35
nHA5	inicial	65,43	1,19	6,56	6,66			19,9
	clareado	72,36	0,37	5,53	5,54	6,93	7,06	16,8
	polido	71,63	0,23	6,15	6,15	6,2	6,29	35,9
nHA6	inicial	63,66	2,51	15,81	16,01			9,3
	clareado	70,09	1,72	12,04	12,16	6,43	7,49	13,1
	polido	70,25	1,12	13,03	13,08	6,59	7,29	20,7
nHA7	inicial	71,77	-0,72	12,24	12,26			22,5
	clareado	76,74	-0,94	8,26	8,31	4,97	6,37	17
	polido	77,63	-1,24	9,48	9,56	5,86	6,5	48,3
nHA8	inicial	69,71	0,64	17,81	17,83			10,6
	clareado	74,72	-0,52	14,03	14,04	5,01	6,39	8,5
	polido	74,92	-1,06	13,08	13,12	5,22	7,25	28,9
nHA9	inicial	70,18	0,69	12,61	12,63			9,6
	clareado	76,17	-0,1	8,01	8,01	5,99	7,59	13,3
	polido	76,84	-0,47	7,45	7,45	6,65	8,5	14,7
Média	inicial	68,30			14,10			24,46
	clareado	74,79			9,87			23,31
	polido	73,52			10,54			38,52

Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Comitê de Ética em Pesquisa

D E C L A R A Ç Ã O
Protocolo 142/2009

Declaramos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo recebeu e aceitou a alteração de 08 incisivos inferiores humanos, para 18 incisivos superiores humanos, referente ao Projeto ***"Influência do tratamento pós-clareamento na cor, no brilho e na morfologia superficial do esmalte dental humano",*** de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Ana Carolina Pedreira de Freitas, sob a orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a.) Maria Angela Pita Sobral.

São Paulo, 27 de abril de 2010.

Profa. Dra. Márcia Turolla Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP