ALESSANDRA PEREIRA DE ANDRADE

**MONITORAMENTO DO PROCESSO DE DESMINERALIZAÇÃO E
REMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE DENTAL HUMANO DURANTE E APÓS
O CLAREAMENTO DENTAL**

São Paulo
2009

Alessandra Pereira de Andrade

**Monitoramento do processo de desmineralização e
remineralização do esmalte dental humano durante e após o
clareamento dental**

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Rubens Côrte Real de
Carvalho

São Paulo
2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

Andrade AP. Monitoramento do processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo, ____/____/2009

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha mãe **Ivani**, o amor, o respeito e apoio incondicionais às minhas decisões permitiram que eu pudesse me dedicar às realizações dos meus sonhos profissionais e meus objetivos de vida.

A minha irmã **Larissa**, meu presente diário,
meu recarregador de energias
minha caixinha particular de alegria.

Aos meus avós maternos **Anna e Manoel** (*in memoriam*).

Energia constante, que faz com que eu me sinta sempre protegida.

Ao meu orientador, o professor **Rubens Côrte Real de Carvalho**. Sua inquietação intelectual é fundamental para meu desenvolvimento pessoal, acadêmico e intelectual. Sua integridade moral e seu senso de justiça traduzem perfeitamente sua personalidade. Exaltar qualidades, tecer elogios seria incapaz de traduzir meus sentimentos e a verdade dos acontecimentos; o prazeroso e doce convívio e as emoções vividas todos esses anos. Minha eterna gratidão...minha profunda admiração...meu mais sincero carinho.

A vocês, pessoas fundamentais na minha vida

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha grande amiga **Angela Mayumi Shimaoka**. Sua calma e paciência são indispensáveis para o meu equilíbrio quase diário, seu apoio e ajuda sempre foram fundamentais durante toda esta trajetória.

Admirável clareza da realidade, firmeza de princípios e capacidade intelectual a fazem um ser humano especial.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos tio e padrinho **Amauri**, minha tia **Eliana** e meu primo **Bruno** sempre presentes em minha vida, torcendo por minhas vitórias pessoais.

Ao meu querido amigo **Marcio Vivan Cardoso**. Exemplo pessoal e profissional, sua generosidade e caráter são emocionantes. Me orgulho por esta amizade forte, sincera, verdadeira e desinteressada fazer parte da minha vida.

À minha amiga **Clarissa Calil Bonifácio** dedicação e disciplina invejáveis, nem mesmo a distância é capaz de diminuir a amizade e companheirismo sincero construídos durante esses anos.

À coordenadora do programa de Pós-graduação em Dentística, professora **Miriam Lacalle Turbino** por todo apoio durante o curso, mais principalmente pela confiança.

À professora **Patrícia Moreira de Freitas** por todo apoio durante todo processo de solicitação do projeto regular de pesquisa para concessão da verba para aquisição do equipamento QLFTTM junto à FAPESP. Mesmo recém ingressa à maternidade, no início de todo o processo, não hesitou em nos auxiliar.

À **Thayne Yamamoto** que como aluna de iniciação permitiu o meu exercício de orientação e docência, minha eterna gratidão pela confiança.

Aos meus queridos amigos **Marcio Garcia dos Santos** e **Flávio Merichello dos Santos**, pelos exemplos pessoais e profissionais. Vocês moram em um lugar especial no meu coração.

À técnica do Laboratório de Pesquisa Aplicada, **Soninha** sempre presente, sempre disponível, sempre carinhosa.

Aos secretários do Departamento de Dentística **David Lascalla** , **Ana Maria** e **Selma** e da secretaria de Pós-graduação **Catia**, **Alessandra** e **Nair** pelo suporte indispensável durante todo o curso de Pós-graduação.

À bibliotecária **Claudia** pela normalização de referências e revisão da formatação deste trabalho.

Ao **CNPq** pela bolsa de estudos concedida durante a realização deste curso.

À **FAPESP** pela análise do projeto deste estudo e aprovação do projeto regular de pesquisa e concessão da verba para aquisição do equipamento QLF™.

Andrade AP. Monitoramento do processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

Este estudo in situ tem como proposta geral monitorar os processos de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental e como objetivos específicos: avaliar se o processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental é influenciado pela utilização de agentes clareadores com diferentes composições e estimar o período necessário para que o esmalte dental clareado atinja os níveis de mineralização evidenciados anteriormente ao início do tratamento clareador. Dez voluntários participaram deste estudo utilizando dispositivos intra-orais contendo quatro fragmentos de esmalte dental humano cada que foram submetidos aos seguintes tratamentos: G1 - peróxido de hidrogênio 35% (Pola Office, SDI); G2 - peróxido de hidrogênio 7,5% (Pola Day, SDI); G3 - peróxido de hidrogênio 7,5% (Day White ACP, Discus Dental); G4 - ácido fosfórico 35% (Condicionador de ácido fosfórico 3M ESPE Scotchbond™ 3M ESPE). O período do estudo compreendeu 21 dias entre tratamento e monitoramento que foi realizado pelo método de fluorescência do tecido dental com o auxílio do equipamento QLF™ System. A análise estatística realizada pelo teste estatístico de ANOVA 2 fatores para mensurações repetidas e o teste de Tukey revelou haver diferenças estatísticas entre os tratamentos realizados e entre os tempos de

mensuração. Após a realização do monitoramento do conteúdo mineral do esmalte dental durante e posteriormente ao término do tratamento clareador pode-se constatar que os agentes clareadores que apresentam composições químicas distintas ocasionaram diferentes níveis de desmineralização no esmalte dental humano, sendo que o composto ACP presente em um dos géis clareadores utilizados foi capaz de reduzir o processo de desmineralização durante o período de tratamento clareador. O período necessário para que o esmalte dental clareado atingisse os níveis de mineralização iniciais variaram em função do clareador utilizado, porém apenas o agente clareador que contém o composto ACP foi capaz de remineralizar completamente após 21 dias.

Palavra-chave: Clareamento dental, Desmineralização, Remineralização, Esmalte

Andrade AP. Monitoring de-remineralization process on human enamel during and after dental bleaching [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

The overall proposal of this in situ study is to monitor the demineralization and remineralization process of human enamel during and after dental bleaching and its specific objectives are: to assess whether the process of demineralization and remineralization of enamel is influenced by the use of bleaching agents with different composition and estimate the time required to bleached enamel reaches the levels of mineralization observed prior to bleaching treatment. Ten volunteers participated of this study wearing intra-oral devices containing four fragments of human enamel submitted to the following treatments: G1 - 35% hydrogen peroxide (Pola Office, SDI), G2 - 7.5% hydrogen peroxide (Pola Day, SDI); G3 - 7.5% hydrogen peroxide (Day White ACP, Discus Dental); G4 - 35% phosphoric acid (Scotchbond 3M ESPE, 3M ESPETTM). The study period comprised 21 days of treatment and monitoring. Monitoring was conducted by the quantitative light fluorescence method, with QLF TM System. Statistical analysis performed by the statistical two-way ANOVA for repeated measurements and Tukey tests demonstrated differences between treatments and between measurement times. Monitoring the enamel mineral content during and after the end of the bleaching treatment revealed that the bleaching agents with different chemical compositions resulted in different levels of human enamel

demineralization and that, the ACP compound present in one of the bleaching agents used was able to reduce the demineralization process during the bleaching treatment. Time required for the bleaching human enamel reaches the initial levels of mineralization varied depending on the bleaching agent used, but only the bleaching agent containing ACP was able to completely remineralize enamel after 21 days.

Keywords: Bleaching agents, Desmineralization, Remineralization, Enamel

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
3 PROPOSIÇÃO.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1 Aspectos éticos.....	28
4.2 Delineamento experimental.....	28
4.3 Seleção da amostra.....	29
4.4 Seleção de voluntários.....	30
4.5 Regime de aplicação dos tratamentos propostos.....	33
4.6 Período de análise.....	34
4.7 Quantificação de conteúdo mineral pelo método de fluorescência do substrato dental.....	36
4.8 Tratamento estatístico dos dados.....	39
5 RESULTADOS.....	40
6 DISCUSSÃO.....	46
7 CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS.....	59
ANEXO.....	65

1 INTRODUÇÃO

A estética na Odontologia é um fator determinante para o desenvolvimento de novos materiais e técnicas. Dentre os fatores que ocasionam comprometimento estético estão as alterações cromáticas de um ou mais elementos dentais, além de desproporção de forma e alinhamento.

Apesar do clareamento dental não ser uma técnica recente, por muito tempo as alterações cromáticas dentais eram casos clínicos que por vezes apresentavam características de etiologia e intensidade que dificultavam sua resolução, exigindo o desgaste de estrutura dental hígida para realização de procedimentos restauradores para um reestabelecimento estético adequado.

Com a evolução de produtos clareadores e técnicas mais eficazes o tratamento clareador se tornou um dos procedimentos estéticos mais executados graças à sua eficiência, simplicidade e principalmente por ser um tratamento minimamente invasivo quando comparado aos procedimentos restauradores.

O procedimento de clareamento dental ocorre graças à permeabilidade do esmalte e da dentina e exige o íntimo contato entre agente clareador e os tecidos mineralizados dentais. Entretanto, o contato direto dos agentes clareadores com a superfície do esmalte dental, por um longo período de tempo, pode causar efeitos adversos a este tecido, devido a características particulares dos componentes dos agentes clareadores.

Alguns efeitos indesejados decorrentes do tratamento de clareamento dental, tais como alterações no conteúdo mineral resultante de processo de desmineralização do esmalte dental e suas conseqüências como alteração de rugosidade, microdureza e micromorfologia superficial, têm sido sistematicamente analisados por diferentes metodologias e reportados na literatura científica.

É presumível que a remineralização do substrato exposto ao clareador ocorra, posto que na cavidade bucal fenômenos de desmineralização e remineralização são processos dinâmicos e que ocorrem constantemente.

Porém a efetiva reversão de tais efeitos assim como o período necessário para que esta seja evidenciada ainda permanece como assunto de investigação, para que conceitos contrastantes possam ser elucidados. Talvez a dificuldade em se empregar um método adequado de análise, com características de sensibilidade e especificidade, tenha atrasado a obtenção destas respostas.

O conhecimento detalhado do mecanismo de clareamento, assim como possíveis interações químicas entre agentes clareadores e tecidos dentais são indispensáveis para que efeitos indesejados possam ser minimizados quando da realização deste procedimento na prática clínica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O clareamento de dentes vitalizados ocorre graças à interação físico-química entre os tecidos dentais mineralizados e o agente clareador (EFEOGLU; WOOD; EFEOGLU, 2005).

O esmalte dental humano maduro é o tecido mais mineralizado do corpo humano, constituído por 96% de cristais inorgânicos de fosfato de cálcio e hidroxiapatita, que constituem a ultraestrutura prismática do tecido, 3% de água e 1% de matriz orgânica em peso. O material orgânico é composto pelo polipeptídeo amelogenina e proteínas não-amelogeninas que constituem a região interprismática (FEJERSKOV; KIDD, 2005; TUNG; EICHMILLER, 2004; YEH et al., 2005). Caracteriza-se por apresentar extrema dureza podendo ser modificado por desmineralização ácida. Esta desmineralização é fortemente influenciada pelo pH e atividade iônica do meio bucal (AMJAD; KOUTSOUKOS; NANCOLLAS, 1981; FEJERSKOV; KIDD, 2005).

As apatitas dos tecidos dentais resistem diferentemente às variações de pH na cavidade bucal. Para hidroxiapatita o pH crítico é 5,5, para a fluorapatita a dissolução mineral inicia em pH inferior a 4,5, já a apatita carbonatada é a mais sensível à desmineralização ácida ocorrendo em pH inferior a 6,5. Desta forma diferentes regiões do mesmo tecido dental mineralizado podem responder diversamente a exposição a desafios ácidos (ATTIN, 2006; FEJERSKOV; KIDD, 2005; SILVERSTONE, 1977).

A desmineralização do esmalte dental se traduz em uma dissolução química do tecido que pode ocorrer de duas formas básicas: a dissolução por ácidos bacterianos que resulta na cárie dental e a dissolução por ácidos não bacterianos que caracteriza a erosão dental (ELTON et al., 2009; FEJERSKOV, KIDD, 2005).

O esmalte dental apesar de ser um tecido cristalino altamente mineralizado apresenta certa permeabilidade, o que permite a difusão de substâncias e a troca iônica com o meio bucal. É justamente esta característica de membrana semipermeável que permite a ocorrência do clareamento dental (JOINER, 2006; PINHEIRO, 2009; RODRIGUES et al., 2001).

O clareamento dental consiste na degradação de moléculas de alto peso molecular, situadas no interior dos tecidos dentais mineralizados, que refletem determinado comprimento de onda de luz emitida pelo dente, que faz com que o dente pareça escurecido. A formação de cadeias moleculares longas e complexas no interior da estrutura dental é responsável pelo aumento do índice de absorção de luz pelo elemento dental. Assim moléculas com reduzidas dimensões e menor peso molecular originadas pelo clareamento dental permitem o reestabelecimento das propriedades ópticas do elemento dental (DAHL; PALLESEN, 2003; JOINER, 2006).

Apesar do mecanismo de ação dos agentes clareadores ser complexo, o processo básico envolve uma reação de oxidação (CHEN; XU; SHING, 1993). Os pigmentos são compostos por moléculas de carbono de alto peso molecular. A decomposição do peróxido de carbamida e hidrogênio geram moléculas de oxigênio capazes de romperem ligações

químicas dos pigmentos e convertê-los em compostos intermediários (cadeias menores) que são mais claros. Essa reação química altera o tipo, número e posição relativa dos átomos que compõem essas moléculas (DAHL, PALLESEN, 2003; JOINER, 2006). A figura 2.1 mostra, de forma esquemática, esse fenômeno.

Figura 2.1 – Esquema do mecanismo químico de clareamento dental. Ação do oxigênio proveniente da decomposição dos agentes clareadores sobre as moléculas de pigmento responsáveis pelo escurecimento do elemento dental

O peróxido de hidrogênio, ingrediente ativo dos géis clareadores (JIANG et al., 2007), é um forte agente oxidante que possui a capacidade de se difundir livremente através do esmalte e dentina em função da permeabilidade desses substratos e devido ao baixo peso molecular dessas substâncias (CHEN; XU; SHING, 1993). Assim o clareamento dental ocorre graças à permeabilidade do esmalte e da dentina e a capacidade de difusibilidade dos agentes clareadores (BITTER, 1992; DAHL; PALLESEN, 2003).

O clareamento dental de dentes vitais pode ser realizado por meio de duas técnicas ou ainda uma associação destas: a técnica de auto-aplicação supervisionada e a técnica de consultório (JOINER, 2006, 2007).

Na técnica de auto-aplicação utiliza-se o agente clareador em forma de gel, peróxido de carbamida ou peróxido de hidrogênio em baixas concentrações, confinado em uma moldeira flexível obtida a partir do modelo em gesso da arcada do paciente. O clareamento de consultório também denominado "office bleaching" é realizado com a utilização de produtos à base de peróxido de hidrogênio em altas concentrações com sua degradação podendo ser catalisada por fontes geradoras de calor (UNLÜ et al., 2004).

O fenômeno do clareamento dental é resultado de uma complexa interação física e química entre o dente e o agente causador do manchamento. Apesar de muitos estudos afirmarem ser este um procedimento absolutamente seguro (CADENARO et al., 2008; SPALDING; TAVEIRA; DE ASSIS, 2003; UNLÜ et al., 2004), muitas dúvidas ainda são aventadas a respeito dos possíveis efeitos indesejáveis provocados pelos produtos à base de peróxidos utilizados para remoção de manchas dentais intrínsecas.

Muitos são os estudos na literatura que relatam a ação de agentes clareadores nos tecidos dentais e seus possíveis efeitos adversos. Diferentes substratos, diversas metodologias, distintas técnicas e agentes clareadores foram avaliados, mas a análise destas pesquisas revela certa discordância a respeito dos resultados encontrados e a concreta relevância clínica dos

efeitos indesejados causados nas estruturas dentais e por vezes relatados. Estudos mostraram que materiais clareadores podem ocasionar perdas de cálcio e fósforo em diferentes graus. A quantidade da perda mineral parece estar relacionada à concentração e acidez dos agentes clareadores. O quadro 2.1 sumariza o conteúdo destes estudos.

AUTORES E ANO DE PUBLICAÇÃO	METODOLOGIA	AGENTE CLAREADOR	TÉCNICA DE MENSURAÇÃO	ALTERAÇÃO
Andrade, 2005	In vitro	PC 10%, 16% e PH 7,5%, 9,5%	Espectroscopia de Emissão Atômica e Microscopia Eletrônica de Varredura	sim
Bistey et al., 2007	In vitro	PH 10, 20 e 30%	FT-IR Espectroscopia	sim
Cadenaro et al., 2008	In vivo	PC 35% e PH 38%	Microscopia Eletrônica de Varredura (réplicas)	não
Cinilli; Pameijer, 2001	In vitro	PC 10 e 15%	Microdureza, Espectroscopia IF, FT-IR Espectroscopia, Espectroscopia Difração de RX.	sim
Crews et al., 1997	In vitro	PC 10% e PH 10%	Espectroscopia de Absorção com RX Dispersivo (EDS)	sim
Efeoglu et al., 2007	In vitro	PH 35%	Microtomografia computadorizada	sim
Efeoglu et al., 2005	In vitro	PC 10%	Microtomografia computadorizada	sim
McCracken; Haywood, 1996	In vitro	PC 10%	Espectrofotometria de Absorção Atômica	sim
McGuckin et al., 1992	In vitro	PC 10%	Microscopia Eletrônica de Varredura	sim
Rodrigues et al., 2005	In vitro	PC 10%	Microdureza	sim
Rotstein et al., 1996	In vitro	PC 10% e PH 30%	Espectroscopia de Absorção com RX Dispersivo (EDS)	sim
Schiavoni et al., 2006	In vitro	PC 10, 16, 37%; PH 35%	Método de coloração histoquímica/ microscopia óptica	sim
Shannon et al., 1993	In vitro/in vivo	PC 10%	Microdureza e Microscopia Eletrônica de Varredura (réplicas)	Sim
Spalding et al., 2003	In vitro	PC 10%	Microscopia Eletrônica de Varredura	não
Tezel et al., 2007	In vitro	PH 35, 38%, PC 10%	Espectrofotometria de Absorção Atômica	sim
Türkun et al., 2002	in vivo	PC 10%	Microscopia Eletrônica de Varredura (réplicas)	Sim
Unlü et al., 2004	In vitro	PC 10, 15%	Microdureza	não
Yeh et al., 2005	In vitro	PC 10%	Microscopia Eletrônica de Varredura	sim
PH – peróxido de hidrogênio e PC – peróxido de carbamida				

Quadro 2.1 – Revisão de artigos científicos sobre clareamento dental e seus efeitos sobre o esmalte dental

A acidez dos agentes clareadores pode ser creditada a dois componentes dos produtos clareadores: a presença de ácidos, como o cítrico e fosfórico e do componente responsável pela viscosidade dos produtos; o Carbopol que é um ácido poliacrílico (SCHWARZ; LEVY, 1958).

Ocorrências como diminuição da microdureza superficial, aumento da rugosidade, alterações de morfologia, aumento de permeabilidade são resultado da desmineralização do substrato exposto ao agente clareador.

No momento em que o esmalte dental é exposto a compostos de natureza ácida, íons de hidrogênio rapidamente dissolvem a porção mineral, provocando perda de íons cálcio e fósforo, que resultam na redução do tamanho do cristal e ampliação dos espaços intercristalinos. Durante o processo de dissolução, o carbonato presente na estrutura do esmalte também pode ser perdido, gerando a formação de espaços que se unem e podem destruir a delicada estrutura de proteína (enamelinas) que circunda os cristais (FEATHERSTONE; GOODMAN; MCLEAN, 1979). O ganho ou perda mineral do esmalte dental, como resultado de desmineralização e remineralização pode ser mensurado pela alteração da dureza do substrato. Assim algumas pesquisas avaliam por meio do teste de microdureza a superfície clareada durante o tratamento clareador (JUSTINO; TAMES; DEMARCO, 2004).

Observa-se a existência de uma ampla variação com relação ao período necessário para que os tecidos dentais retornem às suas características apresentadas anteriormente ao início do tratamento clareador (BITTER, 1992; LEONARD et al., 2001).

Métodos distintos têm sido utilizados na avaliação de modificações ocorridas devido ao clareamento dental nos tecidos dentais, incluindo testes que avaliam quantitativamente alterações das propriedades físicas e químicas, como o teste de microdureza superficial e transversal do esmalte, variações na composição mineral por meio de dosagens bioquímicas ou avaliações qualitativas por meio de diferentes tipos de microscopia (Tabela 2.1). Contudo é necessário a utilização de métodos que possibilitem quantificar a progressão ou regressão dos processos de desmineralização do esmalte (BITTAR-CORTEZ, 2008).

Alguns métodos que se baseiam na fluorescência do substrato (PRETTY; EDGAR; HAIGHAM, 2002) têm sido utilizados com a intenção de mensurar as alterações minerais em estudos clínicos.

A observação clínica visual do processo de desmineralização do esmalte dental humano se traduz em áreas opacas e de coloração esbranquiçada, porém discretas perdas minerais dificilmente podem ser detectadas por meio de inspeção visual.

Um método alternativo para detecção de variações do conteúdo mineral chamado Quantificação Fluorescente por Luz (QLF™), oferece a oportunidade de se diagnosticar estas discretas alterações no conteúdo mineral dental, além de registrar o padrão e tempo do processo de remineralização (AL-KHATEEB et al., 1997; GMÜR et al., 2006; KÜHNISCH; HEINRICH-WELTZIEN, 2004; LENNON et al., 2007; PRETTY; EDGAR; HAIGHAM, 2002).

Dentre algumas das vantagens deste método que poderiam ser ressaltadas estão a sensibilidade de análise, especificidade local, rapidez de mensuração, reprodutibilidade de resultados, além de ser um método não destrutivo e não invasivo (GMÜR et al., 2006).

O método realizado pelo sistema QLF™ tem sido utilizado para diagnóstico, análise e acompanhamento dos processos de desmineralização e remineralização do esmalte submetido a diferentes desafios ácidos que poderiam causar a alteração da superfície, tais como diagnóstico precoce e acompanhamento de lesões de cárie e erosão dental (ELTON et al., 2009).

Apesar da desmineralização promovida pela utilização de agentes clareadores e suas possíveis conseqüências estar relatada na literatura, os resultados referentes ao possível processo de remineralização que o esmalte está susceptível após o término do tratamento clareador ainda são inconclusivos, visto que a maioria dos estudos longitudinais, sobre clareamento dental, concentram seus objetivos na durabilidade da alteração cromática obtida após o tratamento clareador.

Leonard et al., (2001) realizou um estudo in vivo no qual por meio de microscopia eletrônica de varredura de réplicas obtidas por moldes dos pacientes participantes do estudo concluiu que após seis meses do término do tratamento clareador mínimos defeitos estruturais puderam ser observados.

Um outro estudo in vivo utilizando a mesma metodologia de réplicas e microscopia eletrônica de varredura (BITTER, 1992), avaliou a curto e longo

prazo, os efeitos gerados em superfícies de esmalte clareadas por 14 dias com agentes a base de peróxido de carbamida em concentrações de 16% e 35%. Os resultados demonstraram alterações topográficas e exposição dos prismas do esmalte. Análises após 21 e 90 dias ainda demonstraram alterações da superfície de esmalte, indicando exposição da camada de esmalte prismático.

A análise da remineralização de superfícies de esmalte modificadas por compostos ácidos foi estudada (ALBERT; GRENOBLE, 1971; KAMIURA, 1985; TAKEUCHI, 1982). Estes estudos utilizaram diferentes concentrações de ácido fosfórico, diferentes tempos de ação dos compostos e substratos (esmalte humano e bovino), provavelmente devido a estas diferenças experimentais aliadas às distintas metodologias utilizadas para análise não haja uma concordância quanto ao período necessário para que a remineralização do esmalte desmineralizado ocorra. Os períodos necessários para a remineralização sugeridos por estes estudos variaram entre 96 horas e 15 dias.

Independentemente do concreto impacto clínico de possíveis efeitos adversos causados pelo clareamento dental e do conhecimento do período necessário para que possíveis áreas de desmineralização possam ser remineralizadas, maneiras para minimizar tais efeitos e antecipar a regressão de possíveis alterações estruturais são empregadas e pesquisadas (DAHL; PALLENSSEN, 2003; BITTER, 1992; EFEOGLU; WOOD; EFEOGLU, 2007; JOINER, 2007).

Diferentes compostos têm sido utilizados e incorporados nas formulações dos agentes clareadores a fim de minimizar os possíveis efeitos indesejados acarretados pelo clareamento dental. A maioria dos compostos utilizados visam diminuir a sensibilidade trans e pós-operatória, um dos efeitos adversos mais desagradáveis e comumente relatado pelos pacientes. A maioria dos compostos utilizados são agentes dessensibilizantes que têm como objetivo impedir a movimentação do fluxo dentinário, por meio da oclusão de túbulos dentinários ou bloqueio da ativação neural de mecanoreceptores pulpares. Dentre os compostos mais utilizados em agentes clareadores podem ser destacados o nitrato de potássio e os fluoretos (PINHEIRO, 2009).

Apesar de serem bastante utilizados e estudados ainda não são verificadas bases de evidência científica que denotem a efetividade destas substâncias na prática clínica. É neste contexto que a contínua busca por alternativas traz diferentes compostos com novas propostas de mecanismos de ação.

Recentemente, um composto remineralizador foi desenvolvido e patentado pela ADA Foundation's Paffenbarger Research Center. O ACP (Fosfato de Cálcio Amorfo – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) tem como propósito remineralizar e reverter lesões de cárie incipiente além de minimizar a sensibilidade dental à estímulos térmicos e tácteis. O ACP está disponível em alguns produtos odontológicos como dentifrícios, clareadores, dessensibilizantes e gomas de mascar. Este composto é um derivado de produtos baseados em nanocomplexos de ACP-CCP (Fosfato de Cálcio

Amorfo - fosfopeptídeo de caseína). O ACP atua fornecendo íons cálcio e fosfato, que interagem diretamente com o aumento da incorporação de flúor no interior da lesão de cárie durante a remineralização, reduzindo a solubilidade do esmalte, aumentando a capacidade tampão do biofilme e da saliva, modificando o metabolismo do biofilme pela elevação das concentrações de cálcio e fosfato e potencializando a remineralização. O CCP, peptídeo bioativo derivado do leite, promove uma sequência físico-química de cascata de eventos promovendo prevenção de lesões de cárie, incluindo inibição bacteriana, exclusão competitiva para sítios de retenção do esmalte, aumento da capacidade tampão da película adquirida do elemento dental sadio. Todas estas propriedades do ACP-CCP resultam em diminuição da desmineralização e aumento da remineralização dos tecidos dentais mineralizados (LLENA, FORNER, BACA, 2009; REYNOLDS, 2008; TUNG; EICHMILLER, 2004).

Estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a ação anticariogênica destes produtos contendo ACP sobre superfícies da estrutura dental (ELTON et al., 2009; REYNOLDS, 2008). Estes estudos demonstraram que a utilização isolada do fosfato de cálcio amorfo foi capaz de diminuir o risco da doença cárie e promover a remineralização de lesões sub-superficiais em esmalte.

A erosão dental, que pode ser definida como a dissolução química dos tecidos dentais mineralizados por um processo químico sem o envolvimento bacteriano (RANJITKAR et al., 2009; YEH et al., 2005), também foi estudada em relação aos possíveis efeitos do ACP-CCP na prevenção

deste fenômeno. Tais pesquisas (RANJITKAR et al., 2009; RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; PANICH; POOLTHONG, 2009) revelaram que a utilização de compostos a base de ACP-CCP foi capaz de minimizar os efeitos ácidos não bacterianos sobre o esmalte dental.

Embora este composto esteja disponível em géis clareadores, o seu suposto efeito de aceleração no processo de remineralização sobre o esmalte dental clareado ainda não está estabelecido.

Assim este estudo será conduzido na intenção de agregar maior conhecimento a respeito do tema efeitos do clareamento dental no conteúdo mineral da superfície do esmalte dental humano exposto aos agentes clareadores.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo in situ tem como proposta geral monitorar os processos de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental e como objetivos específicos:

1. avaliar se o processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental é influenciado pela utilização agentes clareadores com diferentes composições
2. estimar o período necessário para que o esmalte dental clareado atinja os níveis de mineralização evidenciados anteriormente ao início do tratamento clareador

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Foram utilizados 10 terceiros molares humanos cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, com o consentimento do Comitê de Ética em Pesquisa; protocolo 22/07 (Anexo A).

4.2 Delineamento experimental

Neste estudo a variável de resposta alteração mineral, foi avaliada quantitativamente pelo método de fluorescência do substrato dental, segundo dois fatores de variação. Os fatores de variação foram tratamento do esmalte dental em 4 níveis, sendo 3 níveis experimentais e um controle positivo (condicionamento ácido); e o tempo de mensuração em 10 níveis (inicial sem tratamento - baseline, 1ºdia, 2ºdia, 3ºdia, 4ºdia, 5ºdia, 6ºdia, 7ºdia, 14ºdia e 21ºdia).

As unidades experimentais foram compostas por 40 fragmentos de esmalte dental obtidos a partir de faces lisas de terceiros molares humanos e as amostras foram distribuídas entre os 4 grupos (n=10).

4.3 Seleção da amostra

Os elementos dentais foram inicialmente selecionados segundo sua cor, aferida com uma amostra circular de resina composta microhíbrida na cor B0,5 (Opallis Odontopediátrica, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil). A amostra foi obtida inserindo-se a resina composta em uma matriz de silicone de adição em único incremento e fotopolimerizada por um período de 40 segundos (FLASHlite™ 1401, Discus Dental, Inc., Culver City, CA, USA).

Os dentes foram limpos e uma profilaxia foi realizada. Os elementos dentais foram observados em uma Lupa Estereoscópica com uma lente de aumento de 40 vezes com o objetivo de verificar a ausência de defeitos, trincas e/ou imperfeições no esmalte (Figura 4.1A).

Todos os elementos dentais foram analisados pelo método de fluorescência do substrato dental (QLF™ System, Inspektor Reserch Systems BV, Amsterdam, NL – Auxílio Pesquisa Regular FAPESP, processo 2006/01177-8), o método será detalhadamente descrito no item 4.7. Esta análise teve por objetivo verificar se algum dos 10 elementos dentais apresentava alguma área de desmineralização em uma das faces lisas (Figura 4.1A).

Os elementos dentais receberam cortes no sentido transversal no terço médio da raiz utilizando-se um disco diamantado (Exttec, Enfield, CT, USA) com auxílio de uma cortadeira metalográfica (Labcut, modelo 1010, Exttec, Enfield, CT, USA) para serem fixados em um dispositivo de metal acoplado à cortadeira metalográfica (Figuras 4.1B e 4.1C) e receberam cortes seriados a

fim de se obter 4 fragmentos de esmalte, oriundos das superfícies lisas em formato quadrangular com dimensões 5 mm de altura, 5 mm de comprimento e 3 mm de espessura (Figura 4.1D).

A inserção de cada fragmento no dispositivo intra-oral foi alternada seguindo-se em sentido horário, para a aleatorização da posição dos grupos experimentais entre os diferentes voluntários (Figura 4.1G).

Os quatro fragmentos obtidos de cada elemento dental foram armazenados em um recipiente plástico com água deionizada.

Todos os fragmentos foram esterilizados em autoclave (modelo 12L, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, BR) a 121° C em 15 lbs psi por 30 minutos (KUMAR et al., 2005) e armazenados em água deionizada à temperatura de 5°C até o início da fase experimental.

4.4 Seleção de voluntários

Foi realizada uma triagem em que prováveis voluntários foram informados sobre a natureza do estudo, procedimentos envolvidos, desconfortos, riscos e benefícios e forma de acompanhamento do tratamento. Inicialmente, cada voluntário foi submetido a exame clínico e anamnese, para serem analisados conforme os critérios de inclusão e exclusão. Cada voluntário procedeu a leitura e assinatura do consentimento formal (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).

Para a realização do estudo in situ, foram então selecionados dez participantes voluntários de acordo com critérios de inclusão e exclusão listados no quadro 4.1.

Crítérios de inclusão	Crítérios de exclusão
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Faixa etária entre 20 e 35 anos ▪ Presença de todos os elementos dentais ▪ Residirem na área urbana do município de São Paulo ▪ Concordância com a pesquisa e tratamento proposto ▪ Fluxo salivar maior ou igual a 0,2ml/min 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Apresentar algum tipo de patologia bucal e/ ou sistêmica ▪ Apresentar doença periodontal ▪ Fazer uso de tabaco e bebidas alcoólicas ▪ Estar em período gestacional ▪ Fazer uso de medicamentos que acarretem xerostomia e alteração da microflora oral ▪ Atividade da doença cárie

Quadro 4.1 – Critérios utilizados para seleção dos participantes voluntários

Para a mensuração do fluxo salivar não estimulado cada voluntário foi orientado a não escovar os dentes, ingerir bebidas, se alimentar e não exercer atividade físicas intensa pelo menos 1 hora antes da coleta. Os voluntários mantiveram-se sentados em repouso por alguns minutos anteriormente ao início da coleta. Os voluntários foram orientados a depositarem a saliva acumulada durante 1 minuto em um recipiente estéril demarcado. Foi considerado um fluxo salivar normal coletas maiores ou iguais a 0,2 mL/min (DAWES, 2008).

Os voluntários tiveram suas arcadas superiores moldadas com silicone de condensação (Optosil Confort e Optosil Catalisador Pasta, Heraeus Kulzer, USA). A partir dos moldes foram confeccionados modelos de gesso especial (Durone IV, Dentsply Ind. e Com., Petrópolis, RJ, BR) sobre os quais foram confeccionados dispositivos intra-orais palatinos em resina acrílica quimicamente ativada (pó e líquido, Jet Clássico, São Paulo, BR). Os fragmentos foram incluídos na porção central destes dispositivos, sendo inclusos os quatro fragmentos de um mesmo elemento dental em um mesmo dispositivo intra-oral (Figuras 4.1F e 4.1G).

Foi realizado um período de "RUN IN" em que em uma primeira sessão, cada voluntário recebeu escova dental macia (Colgate Professional Extra Clean 35, Colgate-Palmolive, São Paulo, BR), dentífrico (Close-up Double Fresh, Unilever, São Paulo, BR) e fio dental (Colgate Total, Colgate-Palmolive, São Paulo, BR), seguido de instruções de higiene bucal. O objetivo para a doação desses materiais foi padronizar todos os voluntários, que se comprometeram a usar somente os produtos fornecidos pelo pesquisador durante o período do experimento, evitando a utilização de bochechos e outros produtos de higiene bucal. O voluntário também foi aconselhado com relação à dieta alimentar, posto que o consumo abusivo de alimentos ácidos poderia conduzir a resultados falso-positivos, identificando processos de desmineralização nas superfícies de esmalte dos espécimes, conduzindo a resultados equivocados.

4.5 Regime de aplicação dos tratamentos propostos

Os fragmentos foram recobertos por uma fita adesiva de dimensões de 3 X 3 mm em sua porção central e por uma camada de verniz ácido-resistente (esmalte cosmético incolor, Maybelline Colorama, São Paulo, SP, BR). Após a secagem do verniz por 24 horas, a fita adesiva foi removida dos fragmentos delimitando uma área de 9 mm² onde os tratamentos clareadores foram executados (Figura 4.1E). Esta delimitação permite a obtenção de uma área não tratada que desempenha a função de controle negativo do estudo.

Os espécimes foram submetidos aos tratamentos propostos, segundo as recomendações dos respectivos fabricantes e podem ser observados no quadro 4.2.

GRUPO (n=10)	TRATAMENTO	REGIME DE APLICAÇÃO
G1	PO	1 sessão única 4 aplicações seqüenciais
G2	PD	30 minutos diários de clareamento 7 dias consecutivos
G3	DW	30 minutos diários de clareamento 7 dias consecutivos
G4	H ₃ PO ₄ controle positivo	15 segundos aplicação única
<p><i>PO - peróxido de hidrogênio 35% (Pola Office , SDI Inc., Bensenville, IL, USA)</i> <i>PD - peróxido de hidrogênio 7,5% (Pola Day , SDI Inc., Bensenville, IL, USA)</i> <i>DW - peróxido de hidrogênio 7,5% (Day White ACP, Discus Dental, Culver City, CA, USA)</i> <i>H₃PO₄ - ácido fosfórico 35% (Condicionador de ácido fosfórico 3M ESPE Scotchbond™ 3M ESPE, St. Paul, Minn, USA)</i></p>		

Quadro 4.2 – Descrição dos grupos experimentais e tratamentos realizados

Os tratamentos foram realizados com os dispositivos intra-orais localizados externamente a cavidade bucal dos voluntários. Sobre a área central não recoberta pelo verniz ácido-resistente de cada fragmento foi depositado 1 mL de agente clareador (ou ácido fosfórico). Após o término dos tratamentos superficiais, os produtos foram removidos das superfícies com auxílio de sugador e limpos com auxílio de algodão em hastes flexíveis (Cotonetes, Johnson & Johnson do Brasil, São Paulo, BR) umedecidos. Os fragmentos foram individualmente higienizados com dentifrício (Close-up Double Fresh, Unilever, São Paulo, BR) e escova dental elétrica (Oral-B Braun D4010, Gillete do Brasil, BR) durante um período de 30 segundos para posterior mensuração do conteúdo mineral e reposicionamento na arcada superior de cada voluntário.

4.6 Período de análise

O período completo de análise perdurou 21 dias. A análise longitudinal foi executada realizando-se mensurações do conteúdo mineral nos 7 primeiros dias consecutivamente, no 14º dia e no 21º dia (Figura 4.1H).

Figura 4.1 - Esquema ilustrativo do delineamento experimental

4.7 Quantificação de conteúdo mineral pelo método de fluorescência do substrato dental

Os espécimes foram avaliados com relação ao conteúdo mineral do esmalte dental por meio do método de fluorescência do tecido dental com o auxílio do equipamento QLF™ System (Inspektor Reserch Systems BV, Amsterdam, NL – Auxílio Pesquisa Regular FAPESP, processo 2006/01177-8) (Figura 4.2).

Figura 4.2 - Sistema QLF. **A** Monitor; **B** Sistema de vídeo e saída de luz para captação das imagens; **C** Unidade principal com aplicativo para análise das imagens; **D** Peça-de-mão com ponta plástica descartável; **E** Fibra óptica

O método de quantificação mineral por fluorescência do tecido dental baseia-se em diferenças ópticas entre esmalte sadio e esmalte desmineralizado. Um feixe de luz azul-violeta produzido por uma fonte de radiação lâmpada de xenon, ($\lambda=404\text{ nm}$, $10\text{-}20\text{ mW cm}^{-2}$) é conduzido à área de avaliação através de uma fibra óptica, produzindo uma fluorescência amarela no tecido dental mineralizado irradiado. Quando iluminado por luz azul, o esmalte hígido aparece fluorescente devido a dentina subjacente; o esmalte desmineralizado, por sua vez, aparece escuro, como resultado do espalhamento da luz. Uma micro-câmera, contendo um filtro laranja ($\lambda\geq 520\text{ nm}$) responsável por eliminar a luz espalhada no tecido, capta a fluorescência produzida no tecido iluminado, produzindo imagens do substrato dental (Figura 4.3)

Figura 4.3 – Imagem da área de desmineralização do esmalte dental humano capturada e processada pelo sistema QLF™

Para a obtenção das imagens dos fragmentos de esmalte os espécimes foram secos com jato de ar comprimido por 30 segundos para padronização do grau de desidratação do esmalte desmineralizado. O dispositivo intra-oral e a ponta da peça de mão do equipamento foram posicionados no suporte para estudos laboratoriais (QLF™ in vitro, Inspektor Dental Care, Amsterdam, NL - Auxílio Pesquisa Regular FAPESP, processo 2006/01177-8). Este suporte possibilita que o espécime analisado e a peça de mão permaneçam dispostos paralelos entre si permitindo que a distância entre eles possa ser ajustada a fim de propiciar uma condição de foco ideal e para que manutenção da distância entre o espécime analisado e a peça de mão seja a mesma em todas as mensurações.

As imagens foram capturadas em câmara escura, armazenadas no disco rígido da unidade principal do equipamento QLF™.

As imagens obtidas foram analisadas, por meio do aplicativo do equipamento (Inspektor™PRO, Inspektor Dental Care, Amsterdam, NL, Auxílio Pesquisa Regular FAPESP, processo 2006/01177-8), quanto à área da lesão (mm^2), profundidade da lesão expressa em percentual de perda de fluorescência do tecido (ΔF em %). O volume da lesão (ΔQ em mm^2 %) é o índice final relativo ao valor de perda mineral do substrato analisado.

4.8 Tratamento estatístico dos dados

Os valores de ΔQ obtidos foram submetidos à análise estatística para determinação da homogeneidade e normalidade da amostra. A partir desta análise foi selecionado o teste estatístico de ANOVA 2 fatores para mensurações repetidas e o teste de Tukey para múltiplas comparações entre os grupos experimentais analisados.

5 RESULTADOS

Os dados obtidos por meio do método de quantificação de conteúdo mineral pelo método de fluorescência do substrato dental expressos em %mm² foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para mensurações repetidas. A comparação entre os grupos para avaliação de diferenças estatísticas foi realizada pelo teste de Tukey. Todos os testes empregados admitiram como nível de significância estatística de 5%. Os valores originais podem ser observados no anexo B.

As médias e os respectivos desvios-padrão dos grupos experimentais nos diferentes tempos de mensuração estão expressos na tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Médias dos grupos experimentais e respectivos desvios-padrão ($\pm$ DP)

	G1		G2		G3		G4	
TEMPO	Média	DP($\pm$)	Média	DP($\pm$)	Média	DP($\pm$)	Média	DP($\pm$)
baseline	0	0	0	0	0	0	0	0
1 dia	-1,37	1,21	-0,15	0,11	-0,01	0,01	-3,64	1,03
2 dia	-0,85	0,54	-0,11	0,06	-0,03	0,01	-2,95	0,70
3 dia	-0,80	0,53	-0,22	0,18	-0,03	0,01	-3,72	0,87
4 dia	-1,21	0,63	-0,45	0,30	-0,04	0,01	-3,40	0,78
5 dia	-0,70	0,56	-0,47	0,34	-0,05	0,01	-3,07	0,66
6 dia	-0,74	0,56	-0,34	0,20	-0,04	0,01	-3,18	0,75
7 dia	-0,87	0,54	-0,32	0,20	-0,02	0,01	-3,37	0,98
14 dia	-1,01	0,61	-0,18	0,13	-0,01	0,008	-2,60	0,69
21 dia	-0,42	0,24	-0,13	0,09	-0,00	0,002	-2,71	1,35

Primeiramente foi utilizado o teste ANOVA 2 fatores para mensurações repetidas, por considerar como desenho experimental um estudo com dois fatores de variação (tratamento e tempo das mensurações) e a vinculação dos dados, posto que foram realizados dez mensurações em cada uma das 40 unidades experimentais.

Os resultados obtidos podem ser observados na tabela 5.2 e a interação entre os fatores de variação está representada na figura 5.1.

Figura 5.1 – Representação gráfica do monitoramento de desmineralização e remineralização dos grupos experimentais estudados

Tabela 5.2 – Resultados do estudo estatístico ANOVA para mensurações repetidas e teste de Tukey

ANOVA 2 fatores para mensurações repetidas - nível de significância 5%					
Fatores de Variação		% total de variação	valor P	significância estatística ?	
Interação		6,55	P<0.0001	Sim	
tempo		4,91	P<0.0001	Sim	
Tratamento		48,71	P<0.0001	Sim	
Pareamento		17,8840	P<0.0001	Sim	
Fatores de Variação		GL	soma dos quadrados	quadrado médio	F
Interação		27	68,02	2,519	3,582
tempo de mensuração		9	50,98	5,664	8,053
Tratamento		3	505,8	168,6	32,68
Pareamento		36	185,7	5,159	7,334
Resíduo		324	227,9	0,7034	
Teste de Tukey - nível de significância 5%					
G1 vs G2		G1 vs G3		G1 vs G4	
Baseline	ns	baseline	ns	baseline	ns
1 dia	*	1 dia	*	1 dia	*
2 dia	ns	2 dia	ns	2 dia	*
3 dia	ns	3 dia	ns	3 dia	*
4 dia	ns	4 dia	ns	4 dia	*
5 dia	ns	5 dia	ns	5 dia	*
6 dia	ns	6 dia	ns	6 dia	*
7 dia	ns	7 dia	ns	7 dia	*
14 dia	ns	14 dia	ns	14 dia	*
21 dia	ns	21 dia	ns	21 dia	*
G2 vs G3		G2 vs G4		G3 vs G4	
Baseline	ns	baseline	ns	baseline	ns
1 dia	ns	1 dia	*	1 dia	*
2 dia	ns	2 dia	*	2 dia	*
3 dia	ns	3 dia	*	3 dia	*
4 dia	ns	4 dia	*	4 dia	*
5 dia	ns	5 dia	*	5 dia	*
6 dia	ns	6 dia	*	6 dia	*
7 dia	ns	7 dia	*	7 dia	*
14 dia	ns	14 dia	*	14 dia	*
21 dia	ns	21 dia	*	21 dia	*
ns – sem diferença estatística * diferença estatística					

Com base na análise estatística pôde-se evidenciar que existem diferenças estatísticas entre os tratamentos realizados no esmalte dental, entre os diferentes tempos de mensuração, assim como a interação entre eles.

Como complementação do estudo estatístico e observação mais particularizada de cada um dos fatores de variação, foram realizadas duas análises de variância para mensurações repetidas para cada um dos fatores isoladamente.

Tabela 5. 3 – Análise estatística do fator de variação tratamento

ANOVA MENSURAÇÕES REPETIDAS – nível de significância 5%	
valor P	P<0.0001
As médias são diferentes estatisticamente? (P < 0.05)	Sim
número de grupos	4
F	66,93
R quadrado	0,8815
TESTE DE TUKEY - MÚLTIPLAS COMPARAÇÕES - nível de significância 5%	
	Significância estatística ?
G1 vs G2	Não
G1 vs G3	Sim
G1 vs G4	Sim
G2 vs G3	Não
G2 vs G4	Sim
G3 vs G4	Sim

A tabela 5.3 mostra os resultados obtidos para a análise estatística do fator de variação tratamentos clareadores. O grupo G4 mostrou valor médio estatisticamente significativamente maior que os demais grupos. Enquanto o grupo G3 mostrou valor médio estatisticamente significativamente menor que os outros grupos estudados.

Com relação à análise do fator variação tempo de mensuração para cada grupo experimental isoladamente, foram observadas diferenças estatísticas entre os diferentes tempos de mensuração em todos os grupos. Os resultados estão descritos nos gráficos da figura 5.2.

Análise Longitudinal

Figura 5.2 – Representação gráfica da análise longitudinal dos grupos experimentais. Letras distintas representam diferenças estatísticas entre os grupos experimentais nos diferentes tempos de mensuração

6 DISCUSSÃO

Alguns efeitos indesejados decorrentes do tratamento de clareamento dental, tais como aumento da permeabilidade, diminuição da microdureza, assim como alterações no conteúdo mineral e na micro-morfologia superficial, têm sido sistematicamente reportados na literatura (JOINER, 2007; SCHIAVONI et al., 2006).

Apesar de estudos in vitro simularem as condições do ambiente bucal deve-se salientar que a dinâmica da interação saliva/esmalte é um fator que não consegue ser totalmente reproduzido em pesquisas laboratoriais (CADENARO et al., 2008; UNLÜ et al., 2004). Embora a saliva artificial utilizada em laboratório possa apresentar certa capacidade remineralizadora, a sua ação de limpeza e capacidade tampão que podem minimizar os efeitos indesejados produzidos pelo clareamento dental não são passíveis de reprodução (ANDRADE, 2005). Essas condições foram evidenciadas no estudo realizado por Justino, Tames e Demarco (2004) que ao compararem a perda de cálcio causada por um clareador à base de peróxido de carbamida 10% in situ e in vitro constataram que a perda do elemento cálcio in vitro foi menor que a metade daquela encontrada na condição in situ. Assim optou-se neste estudo por realizar um estudo in situ, com a intenção de compreender mais profundamente aos efeitos do clareamento dental no conteúdo mineral da superfície do esmalte dental humano exposto aos agentes clareadores.

Para se determinar discretas alterações minerais que possam ocorrer durante um determinado período de tempo, são necessários métodos com alto grau de precisão, para que estas modificações possam ser mensuradas por um ou vários observadores sem variações que comprometam os resultados. Existe a necessidade de métodos que monitorem o conteúdo mineral e também possa ser utilizado em estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo* e uma correlação entre esses resultados possa ser estabelecida. O método ideal deve ser capaz de permitir medidas seqüenciais e ser quantitativo para o ganho e perda mineral (BITTAR-CORTEZ, 2008).

O método da Quantificação Fluorescente por Luz com o sistema QLF™, oferece a oportunidade de se diagnosticar estas discretas alterações no conteúdo mineral dental, além de registrar o padrão e tempo do processo de remineralização. O método de análise realizado pelo sistema QLF™ tem sido utilizado para diagnóstico, análise e acompanhamento dos processos de desmineralização e remineralização do esmalte submetido a diferentes desafios ácidos que poderiam causar a alteração da superfície, tais como diagnóstico precoce e acompanhamento de lesões de cárie e erosão dental (AL-KHATEEB et al., 1997; GMÜR et al., 2006; KÜHNISCH; HEINRICH-WELTZIEN, 2004; LENNON et al., 2007; PRETTY; EDGAR; HAIGHAM, 2002).

Dentre as características metodológicas requisitadas anteriormente que poderiam ser ressaltadas por serem contempladas pelo sistema QLF™ estão a sensibilidade de análise, especificidade local, rapidez de

mensuração, reprodutibilidade de resultados, além de ser um método não destrutivo e não invasivo (GMÜR et al., 2006).

Segundo Pretty, Edgar e Higham (2002), a detecção clínica visual de lesões de cárie (mancha branca) equivaleria a um valor de $\Delta Q = -100 \text{ \%mm}^2$ (unidade de leitura do sistema QLFTM relativo ao valor de perda mineral do substrato analisado) em contrapartida o equipamento seria capaz de detectar precocemente lesões que equivalem a $\Delta Q = -1 \text{ \%mm}^2$.

Devido a alta sensibilidade de análise do equipamento e por ele se basear na diferença de fluorescência do substrato para suas mensurações, foram selecionados para compor a amostra elementos dentais com características colorimétricas de alto valor e baixa intensidade (cor B0.5), com estas características pode-se inferir que estes tecidos dentais não contêm pigmentos em seu interior. Esta condição é de fundamental importância, para que após a ação dos agentes clareadores não se detectasse uma alteração de fluorescência por um processo legítimo de clareamento do esmalte e da dentina graças à quebra de moléculas de pigmento, mas sim uma possível diferença de fluorescência pela desmineralização da superfície de esmalte que permaneceu em contato com o agente clareador.

O procedimento de clareamento dental ocorre graças à permeabilidade do esmalte e da dentina e exige o íntimo contato entre agente clareador e os tecidos mineralizados dentais, desta forma o conhecimento detalhado do mecanismo de clareamento, assim como

possíveis interações químicas entre agentes clareadores e tecidos dentais são indispensáveis para que efeitos indesejados possam ser minimizados.

O esmalte dental é um tecido acelular altamente mineralizado composto por cristais de fosfato de cálcio e microporoso devido aos espaços intercristalinos. Estes espaços intercristalinos são preenchidos por material orgânico e água (FEJERSKOV; KIDD, 2005).

Quando o esmalte é exposto a compostos ácidos, a solubilidade da apatita aumenta consideravelmente (AMJAD; KOUTSOUKOS; NANCOLLAS, 1981; FEATHERSTONE; GOODMAN; MCLEAN, 1979; SILVERSTONE, 1977). Em geral a solubilidade da apatita aumenta 10 vezes com a diminuição de uma única unidade de pH (FEJERSKOV; KIDD, 2005).

O contato direto dos agentes clareadores com a superfície do esmalte dental, por um longo período de tempo, pode causar efeitos adversos a este tecido, devido a características particulares dos componentes dos agentes clareadores (BISTEY et al., 2007).

Os produtos utilizados para clareamento dental, independentemente da marca comercial, basicamente são constituídos por peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações, agentes espessantes e por vezes agentes dessensibilizantes, como por exemplo fluoretos e nitrato de potássio (DAHL; PALLESEN, 2003).

A acidez dos agentes clareadores pode ser creditada a dois fatores: a presença de ácidos, cítrico e fosfórico em sua composição; o segundo componente responsável pela acidez dos géis seria uma característica química do espessante presente na maioria dos clareadores. O Carbopol é

um ácido poliacrílico que apesar de ter um pH neutro, em meio aquoso se dissocia e passa a um pH de aproximadamente 3.0 (SCHWARZ; LEVI, 1958). Além de agir como um composto desmineralizante, este meio ácido criado pelo Carbopol propicia a liberação mais lenta do oxigênio porque a degradação dos peróxidos é retardada em meios de baixo pH (CHEN; XU; SHING, 1993).

Os resultados deste estudo corroboram com pesquisas anteriores que comprovaram a ação desmineralizadora dos agentes clareadores sobre o esmalte dental humano (ANDRADE, 2005; EFEUGLU; WOOD; EFEUGLU, 2005, 2007; MCGUCKIN; BABIN; MEYER, 1992; SHANNON et al., 1993; TEZEL et al., 2007; TÜRKÜN et al., 2002). A porção mineral do esmalte é dissolvida pelos componentes ácidos do gel clareador por meio da ligação química entre seus íons H^+ e os íons fosfato do esmalte. Paralelamente a matriz orgânica é denaturada pela ação do peróxido de hidrogênio sobre a porção proteica do substrato (JOINER, 2006; YEH et al., 2005).

Assim como em outras pesquisas que avaliaram a perda mineral do esmalte exposto aos materiais à base de peróxidos (CIMILLI; PAMEIJER, 2001; COVINGTON et al., 1990; CREWS et al., 1997; JUSTINO; TAMES; DEMARCO, 2004; MCCracken; HAYWOOD, 1996; ROTSTEIN et al., 1996) os resultados deste estudo mostraram que todos os materiais clareadores promoveram diferentes graus de desmineralização. As diferenças encontradas justificam-se pelas composições de cada um dos agentes clareadores.

Apesar de não poder ser igualado aos níveis de desmineralização provocados pelo ácido fosfórico (G4), quando da análise do fator de

variação tratamento, o grupo que foi submetido ao clareamento de consultório (G1) mostrou os maiores níveis de desmineralização entre os três agentes clareadores estudados. Este achado é concorde com outros estudos que encontraram maiores alterações de substrato quando da utilização de clareadores de alta concentração (EFEOGLU; WOOD; EFEOGLU, 2007; ROTSTEIN et al., 1996; SCHIAVONI et al., 2006; TEZEL et al., 2007). Considerando-se apenas o primeiro dia de clareamento dental, cuja condição experimental permitiu que todos os grupos permanecessem pelo mesmo período em íntimo contato com os géis clareadores nota-se o mesmo comportamento. Fato indicativo de que os componentes ácidos dos agentes clareadores e o espessante não devam ser unicamente responsabilizados pela alteração tecidual causada pelos clareadores dentais. O peróxido de hidrogênio em alta concentração provavelmente propiciou uma denaturação mais severa da região interprismática do esmalte dental (JIANG et al., 2007; ROTSTEIN et al., 1996; YEH et al., 2005).

Por outro lado o clareador que apresenta em sua composição o composto ACP (G3) promoveu os menores índices de desmineralização independentemente do tempo de mensuração analisado. Nota-se também que este grupo foi o único que apresentou uma remineralização total do esmalte dental clareado após o período de 21 dias de análise.

Primeiramente este composto, segundo um estudo realizado por Pinheiro (2009), tem como característica um pH inicial de 8,8 o que favoreceria a não dissolução do esmalte dental. Isto deve ser creditado à promoção de manutenção do pH junto à superfície de esmalte, que ocorre

quando da combinação dos 2 compostos que são oferecidos separadamente no interior da seringa de gel clareador. Um dos compostos apresenta alta concentração de cálcio ácido e o outro composto alta concentração de fosfato básico e carbonato. Quando os dois compostos são misturados na ponta auto-mistura da seringa e aplicados à superfície do esmalte o pH da solução se eleva rapidamente devido à evaporação do dióxido de carbono resultante da reação química entre os dois compostos (PINHEIRO, 2009).

Ademais este composto tem como particularidades a ação de precipitação dos íons cálcio e fósforo na superfície do esmalte dental (LLENA; FORNER; BACA, 2009; REYNOLDS, 2008; TUNG; EICHMILLER, 2004). Estudos avaliando a influência do ACP sobre a erosão dental demonstraram que o composto foi capaz de minimizar a desmineralização do substrato por ácidos não bacterianos (PANICH; POOLTHONG, 2009, RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; RANJITKAR et al., 2009). Pode-se então admitir que ação similar do ACP sobre o esmalte clareado possa ocorrer, visto que a desmineralização promovida pelos componentes ácidos dos clareadores podem ser entendidos como erosão dental.

Segundo Fejerskov e Kidd (2005), o esmalte dental não é um tecido homogêneo apesar de ser basicamente formado por cristais de hidroxiapatita. O cristal que se encontram próximos à superfície externa contém mais flúor e menos carbonato que os cristais situados no interior do tecido. Isto acarreta dissolução irregular ao longo do tecido que pode conter irregularidades micromorfológicas que exponham a camada mais

interna que por ser composta por maior quantidade de carbonato se torna mais solúvel em condições ácidas.

Tal fenômeno foi observado durante o monitoramento das superfícies de esmalte deste estudo. Notou-se que durante o período de 21 dias, diferentes regiões dos diferentes fragmentos submetiam-se a contínuos processos simultâneos de desmineralização e remineralização. Apesar deste fenômeno ter sido evidenciado mais pronunciadamente nos fragmentos expostos ao ácido fosfórico 35% (G4), os fragmentos expostos ao peróxido de hidrogênio 35% (G1) e peróxido de hidrogênio 7,5% (G2) também apresentaram o mesmo padrão de comportamento ao longo do período de análise. Nos fragmentos expostos ao peróxido de hidrogênio 7,5% (G3) este padrão não foi tão claramente observado, provavelmente devido aos diminutos índices de desmineralização ocorrido durante a avaliação. Os padrões anteriormente descritos podem ser observados na figura 6.1.

Figura 6.1 – Padrão de desmineralização e remineralização durante o período de análise

Diferentemente dos resultados encontrados por Leonard et al., (2001) que concluiu, por meio de estudo in vivo e microscopia eletrônica de varredura de réplicas, que após seis meses do término do tratamento

clareador mínimos defeitos estruturais puderam ser observados no esmalte dental exposto ao clareador e Bitter (1992) utilizando metodologia semelhante, observou que análises após 21 e 90 dias ainda demonstraram alterações da superfície de esmalte. Este estudo observou que ao término do período de análise (21º dia) em todos os grupos experimentais tratados com agentes clareadores não mais eram detectadas diferenças estatísticas com o baseline, evidenciando a remineralização do esmalte alterado pelos géis clareadores.

Esta divergência talvez possa ser explicada pelo fato de que apesar da remineralização do esmalte dental ocorrer devido a deposição de minerais na apatita parcialmente desmineralizada levando a um retorno dos cristais aos seus tamanhos originais, a formação de novos cristais completos em uma lesão não seja comum (FEVERSKOV; KIDD, 2005). Isto pode se traduzir em diferentes padrões morfológicos entre o esmalte hígido e o esmalte remineralizado.

O grupo tratado com ácido fosfórico (G4) foi o grupo que apresentou o maior grau de alteração mineral do tecido e ao final do período de análise não mostrou a remineralização do esmalte desmineralizado. Outros estudos (ALBERT; GRENOBLE, 1971; KAMIURA, 1985; TAKEUCHI, 1982) relatam como períodos necessários para a remineralização que variaram entre 96 horas e 15 dias.

O condicionamento ácido conduz à perda irreversível da camada mais externa do esmalte. Entretanto o ácido fosfórico penetra consideravelmente mais profundamente no esmalte e expõe os prismas de

esmalte em extensão muito maior do que o ocorrido pela erosão (ATTIN, 2006).

As alterações causadas pelos clareadores aos tecidos dentais mineralizados por vezes parecem ser bastante discretas, facultando que autores que evidenciaram alterações do substrato clareado afirmem que estas alterações não acarretem implicações clínicas (RODRIGUES et al., 2001; SPALDING; TAVEIRA; DE ASSIS, 2003). Desta maneira se faz necessário um método de mensuração adequado com alta sensibilidade e especificidade para que tênues alterações possam ser detectadas e interpretadas com precisão.

Para que se possa estabelecer um comparativo e buscar inferir qual poderia ser a implicação clínica destas alterações estruturais causadas pelos clareadores, pode-se considerar os valores obtidos em outros estudos que também se utilizaram do método de mensuração da Quantificação Fluorescente por Luz com o sistema QLF™ (ELTON et al., 2009; LENNON et al., 2007) e compará-los com os maiores valores obtidos em cada grupo experimental deste estudo. Assim tem-se:

- erosão dental com valores de $\Delta Q = -7\%mm^2$
- lesões brancas de cárie proximal $\Delta Q = -11\%mm^2$
- clareamento com PH 35% $\Delta Q = -1,37\%mm^2$
- clareamento com PH 7.5% $\Delta Q = -0,47\%mm^2$
- clareamento com PH 7.5% com ACP $\Delta Q = -0,05\%mm^2$
- condicionamento com ácido fosfórico 35% $\Delta Q = -1,35\%mm^2$

Assim percebe-se que os níveis de desmineralização decorrentes do clareamento dental realizado com os diferentes agentes clareadores utilizados neste estudo são significativamente inferiores quando comparados a outras lesões, resultado de diferentes dissoluções ácidas.

Este estudo mostrou que a composição química dos agentes clareadores é determinante em relação às alterações acarretadas no esmalte dental humano e que estas alterações são passíveis de remineralização em condições favoráveis.

7 CONCLUSÕES

Após a realização do monitoramento do conteúdo mineral do esmalte dental durante e posteriormente ao término do tratamento clareador pôde-se constatar que:

1. agentes clareadores que apresentam composições químicas distintas ocasionaram diferentes níveis de desmineralização no esmalte dental humano, sendo que o composto ACP presente em um dos géis clareadores utilizados foi capaz de reduzir o processo de desmineralização durante o período de tratamento clareador.
2. o período necessário para que o esmalte dental clareado atingisse os níveis de mineralização iniciais variaram em função do clareador utilizado, porém apenas o agente clareador que contém o composto ACP foi capaz de remineralizar completamente após 21 dias.

REFERÊNCIAS¹

Albert M, Grenoble DE. An in-vivo study of enamel remineralization after acid etching. J South Calif Dent Assoc 1971;39(9):747-51.

Al-Khateeb S, Oliveby A, de Josselin de Jong E, Angmar-Mansson B. Laser fluorescence quantification of remineralisation in situ of incipient enamel lesions: influence of fluoride supplements. Caries Res 1997;31(2):132-40.

Amjad Z, Koutsoukos PG, Nancollas GH. The mineralization of enamel surfaces. A constant composition kinetics study. J Dent Res 1981;60(10):1783-92.

Andrade AP. Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

Attin T. Methods for assessment of dental erosion. Monogr Oral Sci 2006;20:152-72.

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

Bittar-Cortez JA. Radiografia digital e a técnica de subtração no monitoramento da desmineralização e remineralização do esmalte dentário [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP; 2008.

Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the effect of bleaching agents on enamel: a preliminary report. J Prosthet Dent 1992;67(6):852-5.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE

Cadenaro M, Breschi L, Nucci C, Antoniolli F, Visintini E, Prati C, et al. Effect of two in-office whitening agents on the enamel surface in vivo: a morphological and non-contact profilometric study. *Oper Dent* 2008;33(2):127-34.

Chen JH, Xu JW, Shing CX. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical conditions. *J Prosthet Dent* 1993;69(1):46-8

Cimilli H, Pameijer CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *Am J Dent* 2001;14(2):63-6.

Crews KM, Duncan D, Lentz D, Gordy FM, Tolbert B. Effect of bleaching agents on chemical composition of enamel. *Miss Dent Assoc J* 1997;53(1):20.

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

Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc* 2008;139 Suppl:18S-24S.

Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Thirty-five percent carbamide peroxide application causes in vitro demineralization of enamel. *Dent Mater* 2007;23(7):900-4.

Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent* 2005;33(7):561-7.

Elton V, Cooper L, Higham SM, Pender N. Validation of enamel erosion in vitro. *J Dent*. 2009;37(5):336-41.

Featherstone JD, Goodman P, McLean JD. Electron microscope study of defect zones in dental enamel. *J Ultrastruct Res* 1979;67(2):117-23.

Feverskov O, Kidd E. Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Livraria Santos; 2005.

Gmür R, Giertsen E, van der Veen MH, de Josselin de Jong E, ten Cate JM, Guggenheim B. In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel mineralization. *Clin Oral Investig* 2006;10(3):187-95.

Jiang T, Ma X, Wang Y, Zhu Z, Tong H, Hu J. Effects of hydrogen peroxide on human dentin structure. *J Dent Res* 2007;86(11):1040-5.

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

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

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):219-25.

Kamiura M. Surface remineralization following acid etching of human enamel. *Shoni Shikagaku Zasshi*. 1985;23(3):600-25.

Kühnisch J, Heinrich-Weltzien R. Quantitative light-induced fluorescence (QLF) - a literature review. *Int J Comput Dent* 2004 ;7(4):325-38.

Kumar M, Sequeira PS, Peter S, Bhat GK. Sterilisation of extracted human teeth for educational use. *Indian J Med Microbiol* 2005;23(4):256-8.

Lennon AM, Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Approximal caries development in surfaces in contact with fluoride-releasing and non-fluoride-releasing restorative materials: an in situ study. *Eur J Oral Sci* 2007;115(6):497-501.

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

Llena C, Forner L, Baca P. Anticariogenicity of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a review of the literature. *J Contemp Dent Pract* 2009;10(3):1-9.

McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *J Dent* 1996;24(6):395-8.

McGuckin RS, Babin JF, Meyer BJ. Alterations in human enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosthet Dent* 1992;68(5):754-60.

Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. *J Am Dent Assoc* 2009;140(4):455-60.

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

Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. Detection of in vitro demineralization of primary teeth using quantitative light-induced fluorescence (QLF). *Int J Paediatr Dent*. 2002;12(3):158-67.

Ramalingam L, Messer LB, Reynolds EC. Adding casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate in vitro erosion. *Pediatr Dent* 2005;27(1):61-7.

Ranjitkar S, Kaidonis JA, Richards LC, Townsend GC. The effect of CPP-ACP on enamel wear under severe erosive conditions. *Arch Oral Biol* 2009;54(6):527-32.

Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J* 2008;53(3):268-73.

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

Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod* 1996;22(1):23-5.

Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues AL Jr, Serra MC, Pecora JD, Froner IC. Effect of bleaching agents on enamel permeability. *Am J Dent*. 2006;19(5):313-6.

Schwarz TW, Levy G. A report on the oxidative degradation of neutralized carbopol. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*. 1958;47(6):442-3.

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.

Silverstone LM. Remineralization phenomena. *Caries Res* 1977;11 Suppl 1:59-84.

Spalding M, Taveira LA, de Assis GF. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *J Esthet Restor Dent* 2003;15(3):154-64.

Takeuchi C. Remineralization of acid-etched enamel. *Tsurumi Shigaku*. 1982;8(3):275-91.

Tezel H, Ertaş OS, Ozata F, Dalgat H, Korkut ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence Int* 2007;38(4):339-47.

Tung MS, Eichmiller FC. Amorphous calcium phosphates for tooth mineralization. *Compend Contin Educ Dent* 2004;25(9 Suppl 1):9-13.

Türkun M, Sevgican F, Pehlivan Y, Aktener BO. Effects of 10% carbamide peroxide on the enamel surface morphology: a scanning electron microscopy study. *J Esthet Restor Dent* 2002;14(4):238-44.

Unlü N, Cobankara FK, Altinöz C, Ozer F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *J Oral Rehabil* 2004;31(1):57-61.

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

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 22/07**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Avaliação in situ do processo de desmineralização e remineralização ocorrido durante e após o clareamento dental**", de responsabilidade da Pesquisadora **Alessandra Pereira de Andrade**, sob orientação do(a) Professor(a) Doutor(a) **Rubens Corte Real de Carvalho**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 11 de junho de 2007

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B – Valores originais das mensurações periódicas

VALORES DE ΔQ (% mm²)									
VOLUNTÁRIO 1					VOLUNTÁRIO 6				
	G1	G2	G3	G4		G1	G2	G3	G4
baseline	0	0	0	0	baseline	0	0	0	0
1 dia	-8,08	-0,03	0	-1,27	1 dia	-1,03	-0,7	0	-4,2
2 dia	-2,58	-0,07	0	-2,23	2 dia	-0,92	-0,19	0	-3,95
3 dia	-3,41	-0,06	0	-1,31	3 dia	-0,01	-0,15	0	-2,69
4 dia	-3,94	-0,36	-0,02	-3,51	4 dia	-1,39	-2,03	-0,02	-5,82
5 dia	-3,76	-0,47	-0,01	-3,21	5 dia	-0,02	-2,18	-0,03	-4,52
6 dia	-3,68	-0,45	0	-2,67	6 dia	0,46	-1,19	0	-2,21
7 dia	-3,42	-0,29	-0,01	-2,07	7 dia	0,37	-0,52	-0,04	-4,65
14 dia	-3,41	-0,09	-0,01	-2,06	14 dia	-0,14	-0,76	-0,02	-2,42
21 dia	-1,67	-0,04	0	-1,66	21 dia	-0,3	-0,12	0	-3,28
VOLUNTÁRIO 2					VOLUNTÁRIO 7				
	G1	G2	G3	G4		G1	G2	G3	G4
baseline	0	0	0	0	baseline	0	0	0	0
1 dia	-0,3	-0,04	-0,02	-1,31	1 dia	-0,18	0	0	-3,38
2 dia	-0,68	-0,08	-0,09	-1,92	2 dia	-0,49	0	0	-2,73
3 dia	-0,7	-1,15	-0,09	-2,58	3 dia	-0,52	0	0	-4,01
4 dia	-0,52	-0,75	-0,02	-1,89	4 dia	-1,04	-0,24	-0,01	-2,06
5 dia	-0,79	-0,13	-0,03	-2,34	5 dia	-1,33	-0,09	-0,01	-1,87
6 dia	-0,82	-0,13	-0,05	-2,75	6 dia	-1	-0,02	0	-1,21
7 dia	-0,99	-0,18	-0,02	-2,11	7 dia	-1,02	-0,02	-0,03	-1,59
14 dia	-0,88	-0,02	-0,01	-1,75	14 dia	-0,44	0	0	-1,23
21 dia	-0,75	-0,04	0	-1,56	21 dia	-0,25	0	0	-1,59
VOLUNTÁRIO 3					VOLUNTÁRIO 8				
	G1	G2	G3	G4		G1	G2	G3	G4
baseline	0	0	0	0	baseline	0	0	0	0
1 dia	-0,08	-0,38	-0,05	-3,11	1 dia	-0,16	-0,06	0	-3,01
2 dia	-0,11	-0,47	-0,07	-2,67	2 dia	-0,01	-0,04	0	-2,27
3 dia	-0,1	-0,16	-0,07	-2,44	3 dia	-0,06	-0,1	-0,04	-5,64
4 dia	-0,12	-0,3	-0,05	-1,19	4 dia	-0,16	-0,05	-0,07	-4,01
5 dia	-0,06	-0,32	-0,06	-1,22	5 dia	-0,1	-0,16	-0,09	-3,97
6 dia	-0,05	-0,4	-0,03	-3,98	6 dia	-0,09	-0,09	-0,04	-2,49
7 dia	-0,07	-0,36	-0,04	-7	7 dia	-0,32	-0,1	0	-1,41
14 dia	-0,03	-0,23	-0,03	-4,17	14 dia	-0,11	-0,05	0	-1,25
21 dia	-0,06	-0,29	-0,01	-2,24	21 dia	-0,03	-0,02	-0,01	-1,72
VOLUNTÁRIO 4					VOLUNTÁRIO 9				
	G1	G2	G3	G4		G1	G2	G3	G4
baseline	0	0	0	0	baseline	0	0	0	0
1 dia	-1,43	-0,03	-0,06	-1,79	1 dia	-0,03	0	0	-7,66
2 dia	-0,33	-0,13	-0,08	-2,24	2 dia	-0,04	-0,01	-0,04	-4,32
3 dia	-1,44	-0,03	-0,04	-4,06	3 dia	-0,1	-0,02	-0,04	-4,16
4 dia	-0,77	-0,07	-0,08	-3,43	4 dia	-0,13	-0,02	-0,05	-2,16
5 dia	-0,57	-0,06	-0,07	-3,73	5 dia	-0,29	0	-0,07	-1,99
6 dia	-0,17	-0,07	-0,1	-2,34	6 dia	-0,33	-0,01	-0,06	-2,89
7 dia	-0,21	-0,09	0,05	-2,19	7 dia	-0,16	-0,01	-0,01	-2,32
14 dia	-0,25	-0,08	0,02	-1,62	14 dia	-0,76	-0,05	-0,03	-2,11
21 dia	-0,07	-0,12	0	-1,16	21 dia	-0,35	-0,04	0	-1,03
VOLUNTÁRIO 5					VOLUNTÁRIO 10				
	G1	G2	G3	G4		G1	G2	G3	G4
baseline	0	0	0	0	baseline	0	0	0	0
1 dia	-1,67	-0,25	-0,01	-4,62	1 dia	-0,75	-0,02	-0,02	-6,07
2 dia	-3,06	-0,06	-0,03	-1,24	2 dia	-0,29	-0,05	-0,01	-5,98
3 dia	-1,57	-0,54	-0,03	-3,01	3 dia	-0,16	-0,05	-0,02	-7,37
4 dia	-2,85	-0,64	-0,08	-5,54	4 dia	-1,2	-0,04	-0,09	-4,44
5 dia	-0,67	-1,17	-0,08	-5,44	5 dia	-0,21	-0,12	-0,06	-2,49
6 dia	-0,74	-0,94	-0,09	-4,95	6 dia	-1,03	-0,11	-0,03	-6,4
7 dia	-1,73	-1,39	-0,09	-5,85	7 dia	-1,18	-0,28	-0,07	-4,56
14 dia	-3,1	-0,58	-0,03	-4,88	14 dia	-1	-0,03	-0,02	-4,58
21 dia	-0,4	-0,6	0	-10,2	21 dia	-0,36	-0,06	-0,01	-2,74