ALESSANDRA PEREIRA DE ANDRADE

**EFEITO DA TÉCNICA DE CLAREAMENTO NO CONTEÚDO MINERAL DO
ESMALTE DENTAL HUMANO**

São Paulo

2005

Alessandra Pereira de Andrade

Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano

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

Área de Concentração: Dentística

Orientador:
Prof. Dr. Rubens Côrte Real de Carvalho

São Paulo

2005

FOLHA DE APROVAÇÃO

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.

São Paulo, ____/____/2005

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: _____

ÚLTIMO DISCURSO – O GRANDE DITADOR

O caminho da vida pode ser o da liberdade e da beleza, porém nos extraviamos. A cobiça envenenou a alma do homem...levantou no mundo as muralhas do ódio...e tem-nos feito marchar a passo de ganso para a miséria e os morticínios.

Criamos a época da velocidade, mas nos sentimos enclausurados dentro dela. A máquina, que produz abundância, tem-nos deixado em penúria.

Nossos conhecimentos fizeram-nos céticos; nossa inteligência, empedernidos e cruéis.

Pensamos em demasia e sentimos bem pouco.

Mais do que máquinas, precisamos de humanidade.

Mais do que inteligência, precisamos de afeição e doçura.

Sem essas duas virtudes, a vida será de violência e tudo estará perdido.

Charles Chaplin

DEDICATÓRIA

À minha mãe **Ivani**. Nada que aqui eu escrevesse conseguiria traduzir o amor, o respeito e a admiração que eu sinto por ela. Sem o seu amor sem limites, carinho, esforço e apoio eu não teria conseguido realizar este sonho.

A minha irmã **Larissa**, a pessoa mais doce que Deus poderia ter posto na minha vida. Prova real da minha capacidade de amar.

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

Apesar de ter sido privada de suas presenças físicas tão precocemente tenho a certeza absoluta que vocês continuam comigo sempre.

Ao meu orientador, o professor **Rubens Côrte Real de Carvalho**. Ter me escolhido como monitória há oito anos atrás foi o fato decisivo que me trouxe até aqui. Acompanha-lo durante todos esses anos me deu a oportunidade de conhecer o profissional...o professor ...o pesquisador...o homem sensato,

justo, com uma fantástica capacidade intelectual e acima de tudo dono de uma dignidade invejável . Me sinto cada dia mais lisonjeada pelas oportunidades que ele tem me oferecido e pela confiança em mim depositada. Este momento é apenas a conclusão de uma fase, de uma orientação que teve início antes do mestrado e continuará até muito depois do término do doutorado. Talvez esta frase consiga descrever um pouco do que foi esta orientação durante todos esses anos: "A posse do saber não seria nada se antes não viesse compreensão, humildade e vontade de se dar carinhosamente". Agradeço sempre por ter a sorte de estar ao seu lado. Infelizmente as palavras não conseguem demonstrar o carinho, a admiração e o respeito que eu tenho por você !

A vocês, pessoas tão importantes na minha vida

Dedico este trabalho

Alessandra

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha melhor e mais presente amiga **Angela Mayumi Shimaoka**. Quem diria que uma monitoria na Disciplina de Dentística Restauradora I renderia uma amizade tão sólida. Pessoa tão sensível que tem a capacidade de me acalmar nos momentos de máximo stress. Sempre disposta a dividir comigo as responsabilidades de nossas pesquisas científicas com sua inteligência brilhante. Determinada, com um presente e um futuro promissor.

Ao meu querido amigo **Marcio Vivan Cardoso**. Uma das pessoas mais disciplinadas e dedicadas que eu já conheci. Divertido, inteligente, educado, obstinado, e dono de um caráter raríssimo, essas são algumas das suas qualidades. Apesar de não poder estar aqui no dia da minha defesa eu sei que você está aí da Bélgica torcendo por mim. Você é merecedor de cada uma das coisas boas que têm acontecido na sua vida.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos tio e padrinho **Amauri**, minha tia **Eliana** e meu primo **Bruno** sempre tão presentes em vida e que sempre estão torcendo por mim e vibrando com as minhas conquistas.

À professora **Adriana Bona Matos**. Sempre alegre...sempre bem humorada, quando o trabalho a frente do computador já se tornava insuportável era uma visita à sua sala que me dava ânimo para continuar. Agradeço a oportunidade de aprender com você , poder conhecê-la melhor e ter o prazer de desfrutar da sua convivência no Departamento de Dentística.

À coordenadora do programa de Pós-graduação em Dentística professora **Márcia Martins Marques** que transformou os cursos de Mestrado e Doutorado, processo de mudanças que eu tenho orgulho de ter participado. Apesar de sempre muito ocupada nunca me negou alguns minutos de seu tempo quando precisei de suas sugestões e informações.

À professora **Eliza Maria Agueda Russo** que me despertou o prazer pela pesquisa. Profissional competente e perseverante tendo sempre que superar desafios. Agradeço pelos ensinamentos e pela amizade.

Aos queridos amigos do curso de Pós-Graduação **Ana Cecília Aranha**,
Patrícia Freitas, **Fábio Robles**, **Kátia Rode**, **Patrícia Lloret**, **Vinicius Martins**,
Arlene Tachibana, **Thais Thomé**, **Alexander Kraul**, **Ninoska Uceda** , **Ana Del**
Carmen e **Ricardo Archilla**, que fizeram o meu curso de mestrado mais
agradável e divertido.

Aos amigos **Marcio Garcia dos Santos** e **Flávio Merichello dos Santos**
pelos momentos tão divertidos que temos dividido na Disciplina de Dentística
Restauradora e no curso de Especialização.

À professora **Elisabeth Oliveira** do Instituto de Química da USP que me
recebeu e abriu as portas do Laboratório de Espectrofotometria.

Ao técnico em Radiologia **Roberto Seixas** pelo auxílio nas mensurações
de densitometria.

Ao **Sr. Aldo** que sempre atendeu meus pedidos com um sorriso no rosto
e realizou a cobertura de ouro das amostras para análise de MEV.

À **Sarita**, física do Centro Tecnológico da Marinha, por ter operado o
Microscópio Eletrônico de Varredura para a realização das fotomicrografias
desta dissertação.

À técnica do Laboratório de Pesquisa Aplicada, **Soninha** sempre tão prestativa.

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

À bibliotecária **Vânia Funaro** pela normalização de referencias e revisão da formatação deste trabalho.

À CAPES pela bolsa de estudos concedida durante a realização deste curso.

À Pró-Reitoria de Pós-graduação da USP pela concessão da bolsa auxílio pela participação no Programa PAE.

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.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos: avaliar se a técnica de clareamento de auto-aplicação tem a capacidade de provocar uma perda mineral do esmalte dental humano, em função da concentração, do pH e do número de aplicações dos agentes clareadores, além de observar micromorfologicamente por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura as superfícies de esmalte após exposição aos clareadores e ao ácido fosfórico 37%. Os produtos clareadores analisados foram o Excel 3 Day White 7.5%, Excel 3 Day White 9.5%, Pola Day 7.5%, Pola Day 9.5%, Vivastyle 10% e Vivastyle 16%. Para a análise química foram utilizados 28 incisivos centrais superiores que foram incluídos em resina acrílica de modo que uma área de 50,2 mm² permanecesse em contato direto com os agentes clareadores e com o ácido fosfórico. A mensuração da perda mineral foi realizada por meio de um Espectrofotômetro de Emissão Atômica por Indução de Plasma de Argônio Acoplado. As amostras foram analisadas diariamente durante uma semana e no 14º dia de clareamento. Os resultados obtidos com o auxílio do teste estatístico de Kruskal-Wallis ($p=0,01$) permitiram concluir que todos os agentes clareadores utilizados ocasionaram perda do conteúdo mineral do esmalte dental humano. A concentração dos agentes clareadores de mesmo pH não influenciou na quantidade dos elementos químicos perdidos. O pH dos agentes clareadores influenciou na perda mineral do esmalte humano, sendo que os clareadores com pH ácido

resultaram em maiores perdas, quantidades essas semelhantes às perdas quando o tratamento realizado foi o condicionamento ácido por 15 segundos. A perda do conteúdo mineral não foi influenciada pelas repetidas aplicações dos agentes clareadores. As fotomicrografias revelaram que todas as superfícies de esmalte submetidas aos diferentes procedimentos clareadores mostraram alterações de suas topografias originais. Irregularidades mais severas foram notadas com a utilização de produtos clareadores com pH ácido, em algumas áreas estas modificações se assemelharam às alterações causadas pelo condicionamento ácido.

Palavras chaves: clareamento dental, cálcio, fósforo, pH, esmalte

Andrade AP. The bleaching effect on human mineral dental enamel content [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the bleaching technique capacity to promote a mineral loss of the human dental enamel in function of concentration, pH and number of applications of the bleaching agent, and also SEM observing the enamel surfaces after bleaching and 37% phosphoric acid exposition. The analyzed products were the Excel 3 Day White 7,5%, Excel 3 Day White 9,5%, Pola Day 7,5%, Pola Day 9,5%, Vivastyle 10% and Vivastyle 16%. The chemical analysis had been proceeded using 28 human incisors enclosed in acrylic resin in way that an area of 50,2 mm² remained in direct contact with the bleaching gel and the phosphoric acid. The mineral loss was detected by ICP-AES. The samples had been analyzed daily for the period of one week and in the 14^o day of bleaching. The results obtained by Kruskal-Wallis statistical test ($p=0.01$) had permitted to conclude that all the bleaching agents used had caused mineral content loss of the human dental enamel. The amount of lost chemical elements was not influenced when bleaching agents with the same pH where compared. The pH bleaching agent's values had influenced in the mineral loss of the human enamel. The acidic pH had resulted in higher losses, compared to the amounts lost when the treatment was the 15 seconds acid etching. The mineral content loss was not influenced by repeated applications of the bleaching agent. The photomicrography had disclosed that all the enamel surfaces submitted to the different bleaching procedures had shown alterations of its original topography. Severe irregularities had been noticed with the use of products with acidic pH, in

some areas these modifications had been similar to the alterations caused for the acid etching.

Key words: bleaching agents, calcium, phosphorus, pH, enamel

LISTA DE QUADROS E ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1 - Esquema do mecanismo de ação dos agentes clareadores.....	24
Figura 2.1 - Grupos experimentais do estudo de Flaitz e Hicks em 1996.....	32
Quadro 2.2 Grupos experimentais do estudo de Hosoya et al. realizado no ano de 2003.....	36
Figura 4.1 - Densitômetro.....	44
Figura 4.2 - Confecção dos corpos de prova	46
Quadro 4.1 - Descrição básica dos grupos experimentais.....	46
Quadro 4.2 - Formulação da saliva artificial utilizada.....	48
Figura 4.3 - Recipientes plásticos com tampas de silicone para coletas das amostras.....	49
Figura 4.4 - Espectrofotômetro de Emissão Atômica Induzido por Plasma de Argônio Acoplado (ICP-AES).....	49
Figura 4.5 - Foto ilustrativa da tocha de quartzo, no centro da bobina de cobre alimentada com argônio para formação do plasma.....	50
Figura 4.6 - Esquema de atomização e ionização das amostras.....	51
Figura 4.7 - Esquema da fase experimental.....	52
Figura 4.8 - Molde de silicone de adição para análise em MEV e molde recoberto por ouro.....	54
Quadro 5.1 - Comparação da perda de cálcio em diferentes tempos operatórios....	65

Quadro 5.1 - Comparação da perda de fósforo em diferentes tempos operatórios..	65
Figura 5.1 - Valores médios da perda diária de cálcio (mg/L).....	66
Figura 5.2 - Valores médios da perda diária de fósforo (mg/L).....	66
Figura 5.3 - Representação gráfica das perdas diárias de cálcio (mg/L).....	67
Figura 5.4 - Representação gráfica das perdas diárias de fósforo (mg/L).....	67
Figura 5.5 - Fotomicrografias do grupo 1 no 1° e 14° dias de clareamento	68
Figura 5.6 - Fotomicrografias do grupo 2 no 1° e 14° dias de clareamento	68
Figura 5.7 - Fotomicrografias do grupo 3 no 1° e 14° dias de clareamento	69
Figura 5.8- Fotomicrografias do grupo 4 no 1° e 14° dias de clareamento	69
Figura 5.9 - Fotomicrografias do grupo 5 no 1° e 14° dias de clareamento	70
Figura 5.10 - Fotomicrografias do grupo 6 no 1° e 14° dias de clareamento	70
Figura 5.11 - Fotomicrografias do grupo 7 no momento inicial e após 15 segundos de condicionamento ácido	71
Figura 5.12 - Fotomicrografias do grupo 8 no 1° e 14° dias de imersão em água.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 -	Perdas do elemento cálcio.....	30
Tabela 2.2 -	Mudanças na morfologia superficial após o tratamento clareador . Zalkind et al. (1996).....	33
Tabela 4.1 -	Densidades dos dentes da amostra.....	44
Tabela 5.1 -	Valores das concentrações dos elementos químicos das substâncias estudadas (concentração inicial).....	55
Tabela 5.2 -	Valores obtidos no 1º dia de clareamento.....	56
Tabela 5.3 -	Valores obtidos no 2º dia de clareamento.....	57
Tabela 5.4 -	Valores obtidos no 3º dia de clareamento.....	58
Tabela 5.5 -	Valores obtidos no 4º dia de clareamento.....	59
Tabela 5.6 -	Valores obtidos no 5º dia de clareamento.....	60
Tabela 5.7 -	Valores obtidos no 6º dia de clareamento.....	61
Tabela 5.8 -	Valores obtidos no 7º dia de clareamento.....	62
Tabela 5.9 -	Valores obtidos no 14º dia de clareamento.....	63
Tabela 5.10 -	Comparação dos postos das amostras para o íon cálcio.....	64
Tabela 5.11 -	Comparação dos postos das amostras para o íon fósforo.....	64
Tabela 5.12 -	Médias em mg/L e desvios-padrão dos grupos experimentais.....	68

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

CO ₂	dióxido de carbono
C ₃ H ₄ O ₂	carbopol
EDS	Espectroscopia de Absorção com Raio X Dispersivo
g	grama
g/cm ²	grama por centímetro quadrado
H ₂ O	água
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
ICP- AES	Espectrofotômetro de Emissão Atômica Induzido por Plasma de Argônio Acoplado
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mm	milímetro
mm ²	milímetro quadrado
ml	mililitro
mg/L	miligramas por Litro

nm	nanômetro
O ₂	oxigênio
pH	potencial hidrogeniônico
PVC	policloreto de vinila
³² P	radioisótopo 32 do elemento fósforo
μg/mm ²	micrograma por milímetro quadrado
μl	microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	grau Celsius
K	Kelvin
®	marca registrada
%	porcentagem

SUMÁRIO

p.

1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DA LITERATURA	26
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Material e Instrumentais	41
4.2 Métodos	43
4.2.1 Limpeza dos elementos dentais e padronização da amostra	43
4.2.2 Análise Química por Espectrofotometria de Emissão Atômica	45
4.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	53
5 RESULTADOS	55
5.1 Análise Espectrofotométrica dos elementos químicos	55
5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura	68
6 DISCUSSÃO	74
7 CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS	85
ANEXO	90

1 INTRODUÇÃO

Segundo a literatura a preocupação com a estética dental vem sendo relatada desde as épocas mais remotas. Os fenícios e os etruscos (800 – 900 a.C) já se importavam com sua aparência e modificavam o formato de seus dentes (ASCHHEIM; DALE, 2001).

Na cultura contemporânea a aparência continua sendo de suma importância e tem exigido que os indivíduos sigam os padrões vigentes para serem aceitos e terem sucesso, seja nas relações interpessoais seja profissionalmente.

Existe hoje um novo padrão de beleza do sorriso que se traduz em dentes claros, bem contornados e corretamente alinhados. Mas a cor dos dentes é uma particularidade especial. A poesia persa, assim como a européia, compara os dentes a pérolas e a estrelas (ROSENTHAL, 1998). Os dentes claros são vistos com a conotação de saúde, jovialidade e asseio. Um belo sorriso é considerado um acessório fundamental que compõe a aparência e apresentação do indivíduo, aumentando a auto-estima.

As alterações cromáticas dentais podem ser classificadas em extrínsecas e intrínsecas, dependendo de sua localização e da etiologia. Geralmente, as alterações extrínsecas ocorrem por deposição de substâncias pigmentadas sobre a superfície dental. As alterações intrínsecas são resultado da presença de substâncias cromogênicas no interior dos tecidos dentais mineralizados podendo ser causadas por trauma, necrose pulpar, medicamentos ou escurecimento fisiológico.

Tentativas de clarear dentes são relatadas há mais de 130 anos (FASANARO, 1992), mas a grande revolução aconteceu no ano de 1989 quando

alterações extrínsecas ocorrem por deposição de substâncias pigmentadas sobre a superfície dental. As alterações intrínsecas são resultado da presença de substâncias cromogênicas no interior dos tecidos dentais mineralizados podendo ser causadas por trauma, necrose pulpar, medicamentos ou escurecimento fisiológico.

Tentativas de clarear dentes são relatadas há mais de 130 anos (FASANARO, 1992), mas a grande revolução aconteceu no ano de 1989 quando Haywood e Heymann propuseram uma técnica alternativa para a eliminação de manchas intrínsecas. O novo tratamento clareador dispensava o condicionamento do esmalte com ácido fosfórico antes da aplicação do gel clareador e a necessidade de polimento da superfície após o término do clareamento.

A técnica por eles descrita utilizava uma moldeira confeccionada em silicone sobre o modelo de gesso do paciente na qual o agente clareador, um gel de peróxido de carbamida 10%, era depositado e o paciente permanecia com a moldeira enquanto dormia, este procedimento se repetia diariamente durante 5 semanas.

Os mecanismos de ação dos agentes clareadores, seja peróxido de carbamida ou peróxido de hidrogênio, são semelhantes, já que em ambos os casos o agente ativo é o peróxido de hidrogênio. O gel de peróxido de carbamida ao entrar em contato com a saliva decompõe-se em peróxido de hidrogênio e uréia, o peróxido de hidrogênio por sua vez, transforma-se em água e oxigênio e a uréia em amônia e dióxido de carbono (DAHL; PALLESEN, 2003).

Apesar do mecanismo de ação dos agentes clareadores ser complexo, o processo básico envolve uma reação de oxidação. Os pigmentos são compostos com grandes quantidades de moléculas de carbono. Essas moléculas são quebradas e convertidas 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.

Figura 1.1- Esquema do mecanismo de ação dos agentes clareadores

No decorrer do clareamento as cadeias de carbono são transformadas em CO_2 e H_2O , sendo gradualmente liberados junto com o oxigênio nascente (GOLDSTEIN; GARBER, 1995).

O peróxido de hidrogênio é um forte agente oxidante que possui a capacidade de se difundir livremente através do esmalte e da dentina em função da permeabilidade desses substratos e devido ao baixo peso molecular dessas substâncias (BARATIERI et al., 1994; HAYWOOD; HOUCK; HEYMAN 1991).

Muitos são os estudos que relatam as vantagens do clareamento dental, assim como sua eficácia e segurança de utilização, porém existem divergências entre pesquisadores quanto aos efeitos adversos, entre eles a sensibilidade dentária durante o tratamento, a diminuição da dureza, aumento da rugosidade superficial e a alteração morfológica do esmalte exposto aos agentes clareadores.

Um dos pontos de maior discordância parece ser com relação a alterações do conteúdo mineral do esmalte dental humano. Trabalhos na literatura têm relatado uma diminuição da espessura de esmalte durante o tratamento clareador.

Assim, apesar da vasta literatura já publicada tendo como tema central o clareamento dental, ainda nos restam questionamentos sobre o verdadeiro efeito dos agentes clareadores nos tecidos dentais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O senso estético tem aumentado e a preocupação com os dentes leva pacientes com mínimas alterações de cor aos consultórios odontológicos. Essa ansiedade demonstra a grande importância dada pelas pessoas aos elementos dentais e ao seu sorriso (BUSATO et al., 1986; ROSENTHAL, 1998).

As alterações de cor por manchamento podem ser classificadas em extrínsecas e intrínsecas, dependendo de sua localização e da etiologia. Geralmente, as alterações extrínsecas ocorrem após a atração e deposição de substâncias pigmentadas sobre a superfície dental. Substâncias que contenham corantes em sua composição, como por exemplo café, chá, refrigerantes corados e cigarro, podem acarretar este tipo de alteração (ASCHEIM; DALE, 2001; BARATIERI et al., 2001).

As alterações intrínsecas são resultado da presença de substâncias cromogênicas no interior dos tecidos dentais mineralizados. As fontes causadoras são as mais diversas e entre elas as mais comuns são: trauma dental, desgaste fisiológico do esmalte, a administração de tetraciclina, fluorose, má formação dos tecidos dentais e desordens hematológicas (BARATIERI et al., 1994)

A cor de qualquer objeto está relacionada à quantidade de luz que é absorvida e refletida, além do seu comprimento de onda (BARATIERI et al., 2001). 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 (NATHOO, 1997).

O clareamento dental consiste na degradação de moléculas de maior peso molecular que refletem determinado comprimento de onda de luz emitida pelo dente, que faz com que o dente pareça escurecido (FASANARO, 1992; FLAITS; HICKS, 1996).

O clareamento ocorre graças à permeabilidade da estrutura dental e a capacidade de difusibilidade dos agentes clareadores (JOINER; THAKKER, 2004).

Historicamente o primeiro relato de clareamento dental, foi realizado em dentes não vitais por Truman no ano de 1864. O clareamento de dentes vitais com o peróxido de carbamida foi observado por um ortodontista em 1960 que administrava aos seus pacientes um anti-séptico que continha peróxido de carbamida 10%, porém a descoberta foi pouco difundida (DAHL; PALLESEN, 2003; HAYWOOD et al., 1990).

Foi apenas em 1989 quando Haywood e Heymann publicaram um artigo que descrevia a técnica que ficou conhecida como “Clareamento de Dentes Vitais com Protetor Noturno” que esse procedimento se popularizou. A técnica por eles descrita utilizava uma moldeira confeccionada em silicone sobre o modelo de gesso do paciente onde o agente clareador, um gel de peróxido de carbamida 10%, era depositado e o paciente permanecia com a moldeira enquanto dormia, este procedimento se repetia diariamente durante 5 semanas.

As soluções de peróxido de carbamida são extremamente instáveis na cavidade oral e imediatamente se dissociam em peróxido de hidrogênio e uréia. O peróxido de hidrogênio, que é um forte agente oxidante (CHEN; XU; SHING, 1993), por sua vez se degrada em oxigênio e água enquanto a uréia se degrada em amônia e dióxido de carbono (CAVALLI et al.; 2004; GOLDESTINE; GARBER, 1995; HAYWOOD, 1992; ROTSTEIN et al., 1996; ZALKIND et al., 1996).

Os radicais livres (O_2) gerados nestas reações químicas de oxidação e redução, quebram as grandes moléculas que são convertidas em moléculas cada vez menores que são eliminadas por difusão da intimidade do elemento dental (HAYWOOD, 1992).

Os agentes clareadores possuem em suas formulações, além do princípio ativo, os peróxidos, um composto denominado carbopol. O carbopol é um ácido poliacrílico de composição química $C_3H_4O_2$ (NEVEON PHARMACEUTICAL, 2005; SCHWARZ; LEVY, 1958) e está incorporado nos clareadores com a finalidade de diminuir a viscosidade do produto, aumentar a aderência do gel aos tecidos além de propiciar uma liberação mais lenta do oxigênio nascente (JUSTINO; TAMIS; DEMARCO, 2004).

Géis clareadores a base de peróxido de carbamida e peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações e com diferentes pHs são utilizadas respectivamente na técnica de clareamento de caseiro e clareamento de consultório (BARTLETT, 2001; SPALDING; TAVEIRA; DE ASSIS, 2003).

A técnica do clareamento de dentes vitais com protetor noturno revolucionou o tratamento clareador porque dispensava o condicionamento do esmalte com ácido fosfórico antes da aplicação do gel clareador, além de dispensar o polimento da superfície após o término do clareamento (HAYWOOD; HEYMANN, 1989).

Este procedimento teve imediata aceitação tanto pelos profissionais de Odontologia como pacientes. Pesquisas que afirmam ser o clareamento um tratamento eficaz e seguro estão amplamente descritos na literatura (HAYWOOD et al., 1990; HAYWOOD; HOUCK; HEYMANN., 1991; LEONARD Jr. et al., 2001; MCCracken; HAYWOOD, 1996; POTOchnik; KOSEC; GASPERSIC, 2000; RITTER et al., 2002).

Haywood et al. (1990) afirmaram ser, o clareamento com peróxido de carbamida 10%, um procedimento seguro com base em fotomicrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura. Compararam superfícies de esmalte condicionadas com ácido fosfórico durante 60 segundos e superfícies clareadas com Proxigel (peróxido de carbamida 10%). Dois anos mais tarde, Haywood (1992) publicou um artigo de revisão literária e afirma que apesar do mecanismo de ação dos agentes clareadores não ser totalmente conhecido, os agentes oxidantes removem matéria orgânica sem dissolver a matriz de esmalte desde que não se utilize o produto continuamente por um longo período.

Haywood, Houck e Heymann (1991) também afirmaram ser não só seguro mas efetivo o procedimento clareador. Utilizando 4 agentes clareadores com diferentes pHs, a cor dos espécimes foi avaliada com um colorímetro antes e depois do procedimento. Os autores concluem que todos os agentes testados foram capazes de clarear as amostras.

As mesmas considerações sobre eficiência e segurança são compartilhadas por Ritter et al. (2002) , avaliando pacientes após um período de 9 a 10 anos após o tratamento clareador.

McCracken e Haywood (1996) mensuraram *in vitro* a quantidade de cálcio perdida pelo esmalte humano exposto ao peróxido de carbamida 10%, água deionizada e refrigerante à base de cola. A Espectrofotometria de Absorção Atômica, método de mensuração utilizado, mostrou os seguintes resultados com relação à perda de cálcio:

Tabela 2.1 – Perdas do elemento cálcio

Peróxido de Carbamida 10% (I)	1.061 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$
Refrigerante a base de cola (II)	1.253 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$
Água deionizada (III)	0.259 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$

Apesar da perda mineral encontrada nos grupos I e II ser estatisticamente significativa os autores acreditam que o achado não possui significado clínico. Os mesmos resultados e conclusão foram relatados por Potocnik, Kosec e Gaspersic em 2000 que utilizou o mesmo método para analisar a perda de conteúdo mineral causada pelo peróxido de carbamida 10%. Este mesmo estudo avaliou a microdureza do esmalte antes e depois do procedimento clareador e não foi encontrada diferença estatística entre as mensurações.

Um estudo *in vivo* com a intenção de avaliar os efeitos do peróxido de carbamida 10% (Nite White Classic® - Discus Dental) na morfologia do esmalte após 2 semanas de tratamento e 6 semanas de pós-tratamento foi realizado por Leonard et al. no ano de 2001. Participaram desse estudo 10 paciente que se submeteram ao procedimento clareador por um período de 14 dias, sendo o regime diário de permanência de 8 a 10 horas. A Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada por meio de réplicas em resina epóxica obtidas por moldagens realizadas antes do início do tratamento, no 14º dia de tratamento e 6 semanas após o término do tratamento. Os autores não encontraram mudanças significativas em nenhum dos períodos analisados.

Apesar de muitos autores afirmarem ser o clareamento dental um procedimento seguro baseado nos resultados por eles obtido, muitas controvérsias são observadas em relação aos efeitos adversos produzidos nos tecidos dentais, principalmente no esmalte que é o tecido mais mineralizado do corpo humano tendo

em sua composição 37.4% de cálcio e 18.3% de fósforo (SÖREMARK; BERGMAN, 1961). Essa composição altamente inorgânica confere ao esmalte a característica de ser particularmente vulnerável à desmineralização em ambientes ácidos (TEN CATE, 2001).

A alteração das superfícies expostas às diversas formulações de géis clareadores foi estudada de muitas formas:

- *Análise por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura*

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é um instrumento muito versátil e usado rotineiramente para a análise microestrutural de materiais sólidos. Apesar da complexidade dos mecanismos para a obtenção da imagem, o resultado é uma imagem de muito fácil interpretação. Desta forma a MEV se tornou um instrumento imprescindível nas mais diversas áreas, em particular no estudo de novos materiais (MALISKA, 2004).

Assim, Bitter (1992) se beneficiou deste método para observar superfícies de esmalte clareadas com três marcas comerciais de agentes clareadores à base de peróxido de carbamida: Rembrant Lighten, Ultra White e Natural White. Cada um dos 14 dentes utilizados teve metade da superfície coberta por uma fita isolante e a outra metade exposta ao agente clareador. As aplicações totalizaram 30 horas de clareamento. As superfícies clareadas apresentaram alterações que não foram uniformes mesmo quando expostas ao mesmo agente clareador. Algumas regiões apresentavam pequenas porosidades e outras áreas severas alterações de dissolução da superfície.

No mesmo ano McGuckin, Babin e Meyer (1992), ao estudarem superfícies de esmalte clareadas notaram que as alterações mais severas ocorreram em superfícies expostas a clareadores com pH mais baixo.

Flaitz e Hicks (1996) utilizaram 10 molares seccionados em 4 partes que receberam os seguintes tratamentos, realizados conforme as recomendações dos fabricantes:

FACE	MARCA COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO
Disto-bucal	Nite White (Discus Dental)	Peróxido de carbamida 10%
Disto-lingual	Platinum (Colgate-Palmolive)	Peróxido de carbamida 10%
Mesio-bucal	Nite White (Discus Dental)	Peróxido de carbamida 16%
Mesio-lingual	Controle - sem tratamento	

Quadro 2.1 – Grupos experimentais do estudo de Flaitz e Hicks em 1996

As fotomicrografias mostraram que as superfícies clareadas tinham consideráveis alterações quando comparadas às superfícies não tratadas. As amostras controle apresentavam superfícies relativamente lisas e com aspecto típico de esmalte sadio em contraste às superfícies clareadas que estavam porosas, irregulares com perda preferencial da cabeça do prisma e exposição da camada prismática subjacente.

No mesmo ano Zalkind et al. (1996) investigaram os efeitos em esmalte, dentina e cimento, de 6 diferentes soluções clareadoras: solução aquosa de peróxido de hidrogênio 30%, solução aquosa de peróxido de carbamida 10%, pasta de perborato de sódio, Nu Smile, Opalescence, DentalBright. Os 14 pré-molares recém extraídos foram embebidos nos materiais testados durante 7 dias em 37°C. As alterações morfológicas foram classificadas pelos autores e aconteceram da seguinte forma:

Tabela 2.2 – Mudanças na morfologia superficial após o tratamento clareador .
As mudanças foram classificadas em Sem alteração (-); fracas (+); moderadas (++); severas (+++) Zalkind et al. (1996)

Material	esmalte	dentina	cimento
Peróxido de hidrogênio	+++	+++	+++
Peróxido de carbamida	–	++	+
Perborato de sódio	+	–	+
Nu-Smile	++	–	+++
Opalescence	–	–	+++
DentIBright	+++	+++	+++

Os autores afirmaram que os três tecidos estudados sofreram alterações e todos os clareadores geraram algum tipo de alteração das superfícies.

Estudos *in vivo* também foram realizados para avaliar os efeitos dos géis de peróxido de carbamida 10% (Colgate Platinum e Starbright) na morfologia do esmalte após 2 semanas de tratamento. Assim Tukun et al. (2002) realizaram um estudo em que participaram 24 pacientes sendo que 2 deles tiveram 2 pré-molares extraídos por indicação ortodôntica antes do início do tratamento clareador que foram condicionados com ácido fosfórico por 60 segundos. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada por meio de réplicas em resina epóxica. Essas réplicas foram obtidas por moldagens dos dentes previamente extraídos e condicionados, assim como das arcadas dos pacientes, antes do início do tratamento imediatamente após as 2 semanas de clareamento e 3 semanas após o clareamento. Os autores encontraram vários graus de alteração na superfície de esmalte, porém as alterações produzidas pelos agentes clareadores foram menos severas do que aquelas decorrentes do condicionamento com ácido fosfórico.

Cavalli et al. (2004) estudaram os efeitos morfológicos causados pela utilização de peróxido de carbamida em altas concentrações. Foram realizados os seguintes tratamentos: Grupo I – controle, sem tratamento clareador; Grupo II Opalescence Quick® (35%); Grupo III - Whiteness Super® (37%). As aplicações de 30 minutos foram repetidas 4 vezes com um intervalo de 72 horas. Fotomicrografias foram feitas a partir de 2 espécimes de cada grupo. Os autores notaram que as superfícies de esmalte clareadas apresentavam-se mais porosas, com erosões e alterações da região interprismática. Não houve nenhum tipo de alteração nos espécimes do grupo controle.

- *Mensuração de Microdureza do Esmalte*

O estudo *in situ* de Shanonn et al. (1993) teve como proposta investigar o efeito de 3 agentes clareadores à base de peróxido de carbamida 10% com diferentes pHs (Proxigel – pH 4,3 – 4,8; Rembrandt – pH 4,9 – 5,2; Gly-Oxide pH 7,2). Fatias de esmalte foram fixadas em dispositivos de acrílico que foram utilizados pelos pacientes que realizaram tratamento clareador durante 4 semanas. Apesar do teste de microdureza não ter mostrado diferença estatisticamente significativa entre os 3 agentes clareadores, as fotomicrografias revelaram que os agentes clareadores mais ácidos (Proxigel e Rembrandt) causaram alterações mais severas do que o gel Gly-Oxide que possui pH neutro.

Resultados diferentes foram encontrados por Rodrigues et al. (2001). Ao avaliar grupos clareados com Opalescence e Rembrandt e comparados com o grupo controle imerso em saliva artificial durante 42 dias constataram que os espécimes clareados com Opalescence apresentaram maiores valores de microdureza do que

os clareados com Rembrandt nos intervalos de tempo entre o 21º e 35º dias, não havendo diferença na mensuração do 42º dia. Lewinstein et al. (2004) também encontraram diminuição dos valores de microdureza do esmalte clareado.

- *Avaliação da Rugosidade Superficial*

A rugosidade de superfícies intrabucais tem influência direta na adesão inicial de bactérias assim como no acúmulo do biofilme (QUIRYNEN; BOLLEN, 1995). Desta forma é de real importância se investigar sobre as possíveis alterações topográficas produzidas durante os procedimentos executados em Odontologia.

Fatias de esmalte de terceiros molares inclusos recém extraídos foram utilizadas por Gürkan, Bolay e Alaçam (1997) para realização de clareamentos com três diferentes marcas comerciais (Opalescence, Karisma e Nite White), todas à base de peróxido de carbamida 10%. As amostras ficaram expostas aos agentes clareadores durante 30 dias, 8 horas diariamente. Não foi verificada diferença estatística com relação à rugosidade das superfícies clareadas e não clareadas, porém os autores creditam esse resultado à baixa acuidade do rugosímetro utilizado na medição. Os mesmos espécimes foram submetidos à cultura celular com *Streptococcus mutans* e o número de colônias formadas foi contado visualmente. Maior número de colônias foi constatado nas amostras clareadas.

Hosoya et al. (2003) realizaram um estudo semelhante. Avaliaram a rugosidade superficial de dentes humanos submetidos a diferentes regimes clareadores e a posterior adesão de *Streptococcus mutans* nessas superfícies. Os setenta molares humanos utilizados para esta pesquisa foram divididos para formar os seguintes grupos:

GRUPO	REGIME CLAREADOR
1	1 aplicação do gel clareador Hi Lite (35% peróxido de hidrogênio) por 20 minutos
2	3 aplicações do gel clareador Hi Lite (35% peróxido de hidrogênio) por 20 minutos
3	5 aplicações do gel clareador Hi Lite (35% peróxido de hidrogênio) por 20 minutos
4	Condicionamento com ác. fosfórico 40% por 20 segundos + 1 aplicação do gel clareador Hi Lite (35% peróxido de hidrogênio) por 20 minutos
5	Condicionamento com ác. fosfórico 40% por 20 segundos + 1 aplicação do gel clareador Hi Lite (35% peróxido de hidrogênio) por 20 minutos
6	Condicionamento com ác. fosfórico 40% por 20 segundos + 1 aplicação do gel clareador Hi Lite (35% peróxido de hidrogênio) por 20 minutos
7	Condicionamento com ác. fosfórico 40% por 20 segundos

Quadro 2.2 – Grupos experimentais do estudo de Hosoya et al. realizado no ano de 2003

O teste de rugosidade agora realizado com um equipamento de alta precisão (medição de rugosidade por laser sem contato) mostrou que em todos os grupos houve aumento significativo da rugosidade após os tratamentos clareadores. Em todos os grupos foi observado um aumento de adesão de *S. mutans* nas superfícies de esmalte. O número de colônias quantificadas com auxílio de fotomicrografias, aumentou conforme repetidas aplicações dos agentes clareadores eram realizadas.

- *Análises de elementos químicos por Espectrofotometria*

Os métodos de análise Espectrofotométrica Atômica, tanto de Absorção como de Emissão, são muito utilizados nos estudos de química analítica. Estes equipamentos têm uma alta sensibilidade, acuidade e estabilidade na identificação dos elementos químicos em amostras gasosas, sólidas e líquidas (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

Uma das primeiras referências encontrada na literatura avaliando a perda mineral quando da utilização de um peróxido de carbamida por 3 semanas com aplicações diárias de 4 horas, foi o estudo realizado por Covington et al. (1990). Com

a ajuda da Espectroscopia Eletrônica de Análise Química, afirmam ter havido uma perda mineral dos elementos cálcio e fósforo.

A Espectroscopia de Absorção com Raio-X Dispersivo (EDS) foi utilizada para a análise dos níveis de cálcio, fósforo potássio e enxofre, perdidos durante o clareamento no esmalte, dentina e cemento de pré-molares recém extraídos (ROTSTEIN et al., 1996). Foram utilizadas: solução aquosa de peróxido de hidrogênio 30%; solução aquosa de peróxido de carbamida 10%; pasta de perborato de sódio e 3 marcas comerciais de gel para clareamento caseiro: Nu-Smile; Opalescence e DentlBright. Segundo os autores, houve redução significativa na relação cálcio/fósforo e concluem que os materiais clareadores podem afetar adversamente os tecidos dentais duros, devendo ser utilizados com cautela.

O mesmo equipamento (EDS) foi utilizado por CREWS et al. (1997). Os autores afirmam que todos os agentes clareadores utilizados (Brite Smile – peróxido de hidrogênio 10%, Nu-Smile – peróxido de carbamida 15% e Rembrandt Lighten - peróxido de carbamida 10%) acarretaram diminuição nos valores de cálcio e fósforo do esmalte dental e creditam os maiores valores ao gel Rembrandt Lighten por conter em sua formulação Carbopol.

Cimilli e Pameijer (2001) também constataram a perda de cálcio de superfícies de esmalte clareadas com clareadores à base de peróxido de carbamida nas concentrações 10%, 15% e 16% aplicados 6 horas/dia por 5 e 10 dias, utilizando três formas de mensuração: Espectroscopia de Absorção no Infravermelho, Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Espectroscopia de Difração de Raio-X.

O estudo mais recente foi realizado por Justino, Tames e Demarco (2004). Foram realizadas análises *in vitro* e *in situ* da perda mineral de fragmentos de

esmalte dental humano. Os autores concluíram que nas duas situações experimentais houve perda do elemento cálcio, mas *in situ* a perda foi menor , provavelmente pelo poder remineralizador da saliva.

- *Outros métodos de análise*

A mudança topográfica de superfícies de esmalte foi detectada com o auxílio de um Microscópio de Força Atômica por Hegedüs et al. (1999). Avaliaram dois peróxidos de carbamida 10% (Opalescence e Nite White) e uma solução aquosa de peróxido de hidrogênio 30%. Os 3 agentes produziram a formação de sulcos no esmalte após 28 horas de aplicação.

A perda de massa em volume foi medida por Wandera et al. (1994). Utilizando-se de um software capaz de mensurar variações de volume de até $0,0006\text{mm}^3$, os autores captaram e digitalizaram imagens dos dentes antes e após 4 semanas de clareamento com um agente à base de peróxido de hidrogênio em baixa concentração, verificaram perda de estrutura apenas no cemento e na dentina e sugeriram que não foi encontrada diferença estatística no esmalte graças ao pH quase neutro (pH = 6.0) do agente clareador utilizado.

Adachi (2001), quantificou a perda de massa dental após 30 aplicações de peróxido de carbamida (Opalescence 10%), e comparou com a perda de massa ocasionada pelo condicionamento com ácido fosfórico durante 30 segundos no esmalte. Para a avaliação desta perda foi utilizado o método radiométrico, que consiste na medida do ^{32}P do esmalte transferido para o material aplicado (gel clareador ou gel de ácido fosfórico). O autor relata que a perda de massa do esmalte

clareado foi de $15,05 \pm 5,56 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ e do esmalte condicionado com ácido fosfórico $154,52 \pm 67,73 \mu\text{g}/\text{mm}^2$.

Algumas pesquisas têm utilizado a técnica de condicionamento ácido do esmalte proposta pela primeira vez por Buonocore (1955) como comparação ao procedimento clareador, por ser um procedimento rotineiro nos consultórios odontológicos e sabidamente responsável pela perda de cálcio e massa do tecido dental (SHEY; BRANDT, 1982).

Depois de lida a revista de literatura selecionada para o estudo deste tema, a presença de tantas divergências nos geraram dúvidas que estimularam a realização desta pesquisa.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem por objetivos:

3.1 Avaliar a perda do conteúdo mineral (cálcio, fósforo e flúor) do esmalte dental humano :

3.1.1 Ocorrida durante o clareamento dental de auto-aplicação.

3.1.2 Quando utilização de agentes clareadores com diferentes pHs.

3.1.3 Quando utilização de agentes clareadores com diferentes concentrações e mesmo pH.

3.1.4 Com repetições consecutivas dos agentes clareadores num período de 14 dias.

3.2 Observar micromorfológicamente por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura a superfície de esmalte após exposição aos agentes clareadores e ácido fosfórico 37%.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Cumprindo o proposto no capítulo anterior, 28 incisivos centrais superiores íntegros foram padronizados quanto à sua densidade e tiveram suas faces vestibulares delimitadas para colocação do material clareador e o ácido fosfórico. A quantificação da perda do conteúdo mineral foi realizada por meio de um equipamento para análise química. Para a verificação da topografia superficial das amostras foram realizadas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura de 12 doze incisivos centrais superiores. Nos parágrafos seguintes, poderão ser conhecidos detalhes sobre o material e a metodologia empregados neste trabalho. Dentro da listagem, os itens estão dispostos em ordem alfabética, independentemente da cronologia de utilização.

4.1 Materiais e Instrumentais

- Ácido fosfórico Total Etch 37% (Ivoclar Vivadent)
- Água MilliQ® (Millipore)
- Contra ângulo (Kavo)
- Densitômetro de Raios X de Dupla Emissão – Density Scan (Shimadzu)
- Êmbolos de tubetes anestésicos Citanest Dental 3% (Dentsply)
- Escova de Robson (Metalúrgica Fava)
- Escova unitufo cônica (Oral B)
- Espectrofotômetro de Emissão Atômica por indução de Plasma de Argônio Acoplado (Cyrus)
- Estufa Orion (Fanem)

- Excel 3 Day White 7,5% (Discus Dental)
- Excel 3 Day White 9,5% (Discus Dental)
- LabCut 1010 (EXTEC)
- Lupa estereoscópica SZ40 (Olympus)
- Micropipeta 5-50 µl (Labopette)
- Microscópio Eletrônico de Varredura JXA-6400 (JEOL)
- Peagâmetro digital pHmeter F-21 (Horiba)
- Pedra pomes (SS White)
- Pola Day 7,5% (SDI)
- Pola Day 9,5% (SDI)
- Potes plásticos com tampas de silicone
- Programa Estatístico GMC versão 2002
- Purificador de água MilliQ® (Millipore)
- Recipiente plástico (Sanremo)
- Resina acrílica quimicamente ativada Jet (Clássico)
- Saliva artificial (Fórmula e Ação)
- Seringa descartável 10ml (BD)
- Silicona de Adição Perfectim System consistência leve (J. Morita)
- Silicona de Adição Perfectim System consistência pesada (J. Morita)
- Vivastyle 10% (Ivoclar Vivadent)
- Vivastyle 16% (Ivoclar Vivadent)

4.2 Método

4.2.1 Limpeza dos elementos dentais e padronização da amostra

Para a realização deste estudo foram utilizados 40 incisivos centrais superiores cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), após a apreciação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob o parecer de aprovação 05/05 (Anexo A).

Os dentes foram limpos e uma profilaxia com pedra-pomes e água foi realizada com o auxílio de uma escova de Robson em baixa rotação, para que os espécimes pudessem ser observados em uma Lupa Estereoscópica com uma lente de aumento de 40 vezes com o objetivo de verificar a existência de defeitos, trincas e imperfeições no esmalte. Os dentes foram armazenados em água MilliQ® em geladeira à 5°C até o início da fase experimental.

Cada elemento dental foi submetido a uma análise de densidade mineral que foi realizada por um Densitômetro de Raios X de Dupla Emissão. Este equipamento, de propriedade do Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas de São Paulo, opera com um sistema com dois níveis de energia que são emitidos alternadamente. Esta propriedade lhe confere uma alta precisão nas mensurações.

Figura 4.1 – Densitômetro

Pela inexistência, no equipamento, de um parâmetro específico para a densidade de coroas dentais, foi adotado um intervalo reduzido de densidade para a seleção da amostra. O intervalo foi entre 0,0709 e 0,0898 g/cm².

Tabela 4.1 – Densidades dos dentes da amostra

dente	densidade (g/cm ²)	dente	densidade (g/cm ²)
1	0,0831	21	0,0886
2	0,0840	22	0,0750
3	0,0898	23	0,0868
4	0,0711	24	0,0834
5	0,0876	25	0,0839
6	0,0872	26	0,0795
7	0,0837	27	0,0736
8	0,0855	28	0,0871
9	0,0732	29	0,0779
10	0,0860	30	0,0801
11	0,0879	31	0,0887
12	0,0743	32	0,0894
13	0,0739	33	0,0749
14	0,0873	34	0,0835
15	0,0865	35	0,0709
16	0,0871	36	0,0857
17	0,0804	37	0,0893
18	0,0838	38	0,0714
19	0,0759	39	0,0805
20	0,0834	40	0,0843

4.2.2 Análise Química por Espectrofotometria de Emissão Atômica

Para esta fase do experimento foram utilizados 24 incisivos.

Os dentes foram divididos aleatoriamente em 8 grupos de três espécimes cada.

Com o auxílio do equipamento de corte LAB CUT as coroas foram separadas das raízes na altura da interface esmalte-cimento.

Êmbolos de borracha de tubetes anestésicos foram utilizados como apoio das coroas dentais durante a inclusão das mesmas em resina acrílica ativada quimicamente (RAAQ). Esses apoios têm como função padronizar a área de esmalte em contato com os agentes clareadores. Esses êmbolos foram seccionados ao meio obtendo-se cilindros de dimensões 3,0 mm (espessura) e 8,0 mm (diâmetro) que foram fixados com cera pegajosa em bases das matrizes de PVC para que a resina acrílica fosse vertida.

Cada coroa foi posicionada com o terço médio da face vestibular no apoio preso à base da matriz, um anel de PVC foi encaixado nesta mesma base e a resina acrílica vertida lentamente para que não houvesse movimentação da coroa. Após a polimerização da resina acrílica o êmbolo de borracha foi removido, desta forma a área que ficará exposta ao clareador e ao ácido fosfórico em todas as amostras será de 50,2 mm².

Figura 4.2 – Confeção dos corpos de prova

Para aferir os valores de pH fornecidos pelos fabricantes foi feita a mensuração de cada agente clareador e do ácido fosfórico por meio de um peagâmetro digital. Todos os valores fornecidos foram confirmados.

Os 8 grupos experimentais receberam os seguintes tratamentos:

Grupo	material	Marca Comercial	Composição	Tempo de ação	pH
1	Excel 3 Day White	Discus Dental	Peróxido de hidrogênio 7,5 %	1 hora/dia	9,0
2	Excel 3 Day White	Discus Dental	Peróxido de hidrogênio 9,5 %	1 hora/dia	9,0
3	Pola Day	SDI	Peróxido de hidrogênio 7,5 %	1 hora/dia	7,0
4	Pola Day	SDI	Peróxido de hidrogênio 9,5 %	1 hora/dia	7,0
5	VivaStyle	Ivoclar Vivadent	Peróxido de carbamida 10 %	8 hora/dia	5,0
6	VivaStyle	Ivoclar Vivadent	Peróxido de carbamida 16 %	8 hora/dia	5,0
7	Total Etch	Ivoclar Vivadent	Ácido fosfórico 37 %	15 segundos	0,9
8	Água Milli-Q	Millipore	Água de ultrapureza	8 horas	7,0

Quadro 4.1- Descrição básica dos grupos experimentais

Todos os instrumentos utilizados (potes, seringas, micropipetas, pote para acondicionamento das amostras na estufa) foram previamente lavados com água MilliQ® e secos a temperatura ambiente

A água MilliQ® é uma água de ultrapureza. Uma quantidade de água destilada é submetida a três etapas de purificação. No final deste processo a água contida no

purificador é um líquido de composição H_2O sem a presença de nenhum outro elemento químico.

Com o auxílio de uma seringa plástica milimetrada, 2 ml do agente clareador foram aplicados na superfície do esmalte dental dos grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 respectivamente e 100 μ l de saliva artificial foram depositados sobre o gel clareador com o auxílio de uma micropipeta. As amostras foram mantidas em 100% de umidade em estufa a 37°C durante os tempos de ação recomendados pelo fabricante (Quadro 4.1). Esse procedimento foi repetido durante 14 dias.

Para a obtenção de um ambiente com 100% de umidade as amostras eram apoiadas em segmentos de cano de PVC de $\frac{3}{4}$ de polegada no interior de um recipiente plástico retangular. Este recipiente continha água MilliQ® até a metade da altura dos canos de PVC. Durante o período que o conjunto recipiente-amostras permanecia no interior da estufa este se encontrava hermeticamente fechado.

Para a limpeza das amostras, quando terminada a aplicação diária, foi realizada uma escovação de 30 segundos com escova dental macia sem dentifrício dental para que o flúor, cálcio e fósforo do creme dental não interferissem na mensuração. Durante as horas diárias restantes os corpos de prova permaneceram imersos em saliva artificial a 37°C. Como solução de armazenamento dos espécimes e com a função de iniciar a degradação dos clareadores foi escolhida a saliva artificial, para que houvesse uma aproximação entre as condições experimentais e as condições do ambiente bucal. A saliva foi substituída diariamente.

Composto	Quantidade
Cloreto de cálcio	0,21g
Cloreto de potássio	4,8g
Cloreto de sódio	3,4g
Cloreto de magnésio	0,27g
Fosfato de potássio	1,32g
Benzoato de sódio	1g
Carboximetilcelulose sódica	25g
Sorbitol	120g
Água destilada	4850 ml

Quadro 4.2 - Formulação da saliva artificial utilizada

Foram realizadas coletas para análise química dos elementos durante os sete primeiros dias de tratamento, assim como no décimo quarto dia. Após o tempo de ação sobre o esmalte o gel clareador foi retirado por meio de irrigação com uma seringa plástica com 10 ml de água Milliq[®].

No grupo 7 as superfícies de esmalte foram condicionadas por 15 segundos depositando-se 2ml de ácido fosfórico a 37%, após o tempo de ação sobre o esmalte o ácido também foi retirado por meio de irrigação com uma seringa plástica com 10 ml de água Milliq[®].

No grupo 8 as amostras permaneceram apenas imersas em água Milliq[®]. Esta água de ultrapureza foi utilizada na calibração diária do Espectrofotômetro, desta forma durante a calibração as mostras líquidas deste grupo já eram mensuradas.

Todo o conteúdo resultante da irrigação dos oito grupos foi armazenado em potes plásticos com tampas de silicone. As amostras líquidas foram analisadas imediatamente após sua coleta.

Figura 4.3 – Recipientes plásticos com tampas de silicone para coletas das amostras

Antes do início dos procedimentos clareadores e do condicionamento ácido foi determinada a concentração dos elementos químicos cálcio, fósforo e flúor dos agentes clareadores, ácido fosfórico e da saliva artificial na mesma diluição de 2ml do composto analisado para 10 ml de água MilliQ®.

A determinação da concentração dos elementos químicos foi realizada por um Espectrofotômetro de Emissão Atômica por Indução de Plasma de Argônio Acoplado (ICP-AES) pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica do Instituto de Química – USP.

Figura 4.4 - Espectrofotômetro de Emissão Atômica Induzido por Plasma de Argônio Acoplado (ICP-AES)

A leitura por meio do ICP-AES se baseia na medida de emissão de energia proveniente de átomos e íons excitados para identificação e quantificação dos elementos químicos presente em uma amostra.

A solução coletada era aspirada e transportada até um nebulizador, já no interior do Espectrofotômetro, para que a amostra no estado líquido fosse transformada em um gás. Este gás era então ionizado por indução de um equipamento de radiofrequência acoplado ao gás argônio. A ionização (excitação dos átomos) ocorre em uma chama elétrica sob uma temperatura de 10.000K (plasma de argônio).

Figura 4.5 – Foto ilustrativa da tocha de quartzo, no centro da bobina de cobre e alimentada com argônio para formação do plasma

O mecanismo de excitação é colisional. A tendência dos elétrons excitados é a volta ao seu estado fundamental e neste retorno devolvem energia de emissão, esta energia tem comprimentos de onda que são característicos e específicos de cada elemento químico e a intensidade da linha do espectro de emissão é proporcional à concentração do elemento analisado.

Figura 4.6 – Esquema de atomização e ionização das amostras

Este equipamento tem como propriedade alta sensibilidade e especificidade, nos permitindo realizar apenas três repetições para cada grupo.

O valor de cada elemento químico, obtido em cada amostra, foi subtraído do valor inicial do gel clareador utilizado somado ao valor da saliva artificial. No grupo 7 o valor foi subtraído apenas do valor inicial do ácido fosfórico.

Os valores obtidos foram tabulados e submetidos à análise estatística com o auxílio do programa estatístico GMC versão 2002.

Figura 4.7 - Esquema da fase experimental

4.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a observação da topografia do esmalte exposto aos seis agentes clareadores, ao ácido fosfórico e imersos em água de ultrapureza foi utilizado o método de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Foram utilizados os 16 dentes restantes doados pelo Banco de Dentes Humanos da FOUSP. Repetiu-se os mesmos tratamentos descritos para a análise química, com 2 amostras para cada grupo.

Antes do início dos tratamentos, todas as amostras foram moldadas com uma silicona de adição (consistência pesada e leve). Os moldes de silicona foram recortados no limite da coroa, posicionados em *stubs* e recobertos com uma fina camada de ouro de espessura de 120nm (MALISKA, 2004). Todas as amostras foram observadas ao MEV em um aumento de 1500 vezes.

Doze coroas dentais foram submetidas aos tratamentos clareadores por 14 dias, duas condicionadas com ácido fosfórico por 15 segundos e duas imersas em água MilliQ[®] por 8 horas.

Depois da realização dos procedimentos as mesmas amostras foram moldadas novamente, preparadas como descrito e para observação das imagens em microscópio.

Figura 4.8 – Molde de silicona de adição para análise em MEV e molde recoberto por ouro

5 RESULTADOS

5.1 Análise Espectrofotométrica dos elementos químicos

O Espectrofotômetro de Emissão utilizado expressa as mensurações realizadas em mg/L.

Os valores coletados diariamente, obtidos no Espectrofotômetro, foram tabulados e estão representados nas tabelas 5.2 a 5.9. Estas tabelas mostram os valores de cada amostra e a média diária de cada grupo experimental. Os valores observados nestas tabelas já são os valores finais, subtraídos dos valores iniciais de saliva, água para irrigação, ácido fosfórico e géis clareadores (tabela 5.1).

Os valores originais se encontram nos anexos B e C.

Tabela 5.1 – Valores das concentrações dos elementos químicos das substâncias estudadas (concentração inicial)

Amostra	Elemento Químico (mg/L)		
	<i>cálcio</i>	<i>fósforo</i>	<i>flúor</i>
Excel 3 Day White 7.5 % (grupo1)	-	< 0.001	-
Excel 3 Day White 9.5 % (grupo 2)	-	< 0.001	-
Pola Day 7.5 % (grupo 3)	-	< 0.001	-
Pola Day 9.5 % (grupo 4)	-	< 0.001	-
VivaStyle 10% (grupo 5)	-	< 0.001	-
VivaStyle 16% (grupo 6)	-	< 0.001	-
Acido fosfórico (grupo 7)	-	0.83	-
Agua Milliq® (grupo 8)	-	-	-
Saliva artificial	1.20	0.70	

(-) não detectado

Tabela 5.2 – Valores obtidos no 1º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L								
	CÁLCIO			FÓSFORO			FLÚOR		
GRUPO 1	0.50	0.40	0.40	0.10	0.12	0.18	-	-	-
	0.43			0.13			-	-	-
							-	-	-
GRUPO 2	0.35	0.50	0.50	0.09	0.10	0.10	-	-	-
	0.45			0.09			-	-	-
							-	-	-
GRUPO 3	0.40	0.40	0.50	0.15	0.15	0.15	-	-	-
	0.43			0.15			-	-	-
							-	-	-
GRUPO 4	0.40	0.40	0.40	0.15	0.10	0.10	-	-	-
	0.40			0.11			-	-	-
							-	-	-
GRUPO 5	0.65	0.70	0.70	0.20	0.25	0.25	-	-	-
	0.68			0.23			-	-	-
							-	-	-
GRUPO 6	0.82	0.80	0.70	0.25	0.30	0.30	-	-	-
	0.77			0.28			-	-	-
							-	-	-
GRUPO 7	1.30	1.20	1.20	0.40	0.40	0.35	0.20	0.20	0.30
	1.23			0.38			0.23		
GRUPO 8	-			-			-		
	-			-			-		
	-			-			-		

(-) não detectado

Tabela 5.3 – Valores obtidos no 2º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.40	0.40	0.40	0.15	0.10	0.15
	0.40			0.13		
GRUPO 2	0.40	0.40	0.40	0.20	0.20	0.10
	0.40			0.16		
GRUPO 3	0.40	0.45	0.30	0.10	0.10	0.10
	0.38			0.10		
GRUPO 4	0.45	0.45	0.45	0.10	0.15	0.15
	0.45			0.11		
GRUPO 5	0.80	0.80	0.80	0.20	0.24	0.20
	0.80			0.21		
GRUPO 6	0.75	0.75	0.75	0.25	0.30	0.35
	0.75			0.30		

(-) não detectado

Tabela 5.4 – Valores obtidos no 3º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.45	0.40	0.45	0.15	0.15	0.15
	0.43			0.15		
GRUPO 2	0.40	0.40	0.40	0.10	0.20	0.10
	0.40			0.13		
GRUPO 3	0.40	0.40	0.30	0.10	0.10	0.15
	0.36			0.11		
GRUPO 4	0.40	0.40	0.45	0.10	0.10	0.15
	0.41			0.11		
GRUPO 5	0.65	0.70	0.65	0.20	0.20	0.20
	0.66			0.20		
GRUPO 6	0.80	0.80	0.71	0.25	0.30	0.30
	0.77			0.28		

(-) não detectado

Tabela 5.5 – Valores obtidos no 4º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.25	0.40	0.40	0.10	0.12	0.15
	0.35			0.12		
GRUPO 2	0.44	0.40	0.45	0.15	0.18	0.15
	0.43			0.16		
GRUPO 3	0.40	0.40	0.40	0.10	0.10	0.10
	0.40			0.10		
GRUPO 4	0.30	0.40	0.40	0.10	0.15	0.10
	0.36			0.11		
GRUPO 5	0.65	0.70	0.70	0.20	0.20	0.25
	0.68			0.21		
GRUPO 6	0.85	0.80	0.75	0.30	0.30	0.30
	0.80			0.30		

(-) não detectado

Tabela 5.6 – Valores obtidos no 5º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.40	0.30	0.40	0.15	0.10	0.15
	0.36			0.13		
GRUPO 2	0.40	0.40	0.40	0.20	0.20	0.10
	0.40			0.16		
GRUPO 3	0.40	0.45	0.30	0.10	0.15	0.10
	0.38			0.11		
GRUPO 4	0.45	0.45	0.45	0.10	0.15	0.15
	0.45			0.16		
GRUPO 5	0.80	0.80	0.80	0.30	0.25	0.20
	0.80			0.25		
GRUPO 6	0.75	0.75	0.75	0.30	0.30	0.35
	0.75			0.31		

(-) não detectado

Tabela 5.7 – Valores obtidos no 6º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.30	0.25	0.30	0.10	0.10	0.10
	0.28			0.10		
GRUPO 2	0.35	0.40	0.35	0.20	0.10	0.10
	0.36			0.13		
GRUPO 3	0.40	0.30	0.30	0.10	0.12	0.10
	0.33			0.10		
GRUPO 4	0.50	0.45	0.50	0.20	0.20	0.15
	0.48			0.18		
GRUPO 5	0.75	0.80	0.80	0.20	0.25	0.25
	0.78			0.23		
GRUPO 6	0.72	0.80	0.80	0.30	0.35	0.30
	0.77			0.31		

(-) não detectado

Tabela 5.8 – Valores obtidos no 7º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.32	0.35	0.40	0.10	0.14	0.10
	0.35			0.11		
GRUPO 2	0.40	0.30	0.35	0.10	0.15	0.10
	0.35			0.11		
GRUPO 3	0.30	0.35	0.30	0.10	0.10	0.10
	0.31			0.10		
GRUPO 4	0.45	0.38	0.35	0.15	0.18	0.15
	0.39			0.16		
GRUPO 5	0.75	0.80	0.75	0.25	0.30	0.20
	0.76			0.25		
GRUPO 6	0.75	0.85	0.80	0.25	0.35	0.35
	0.80			0.31		

(-) não detectado

Tabela 5.9 – Valores obtidos no 14º dia de clareamento

GRUPOS EXPERIMENTAIS	CONCENTRAÇÕES DOS ELEMENTOS QUÍMICOS EM mg/L					
	CÁLCIO			FÓSFORO		
GRUPO 1	0.25	0.30	0.30	0.10	0.10	0.15
	0.28			0.11		
GRUPO 2	0.45	0.40	0.45	0.20	0.15	0.15
	0.43			0.16		
GRUPO 3	0.40	0.30	0.30	0.10	0.14	0.10
	0.33			0.11		
GRUPO 4	0.30	0.30	0.35	0.15	0.10	0.13
	0.31			0.12		
GRUPO 5	0.70	0.70	0.70	0.20	0.20	0.15
	0.70			0.18		
GRUPO 6	0.80	0.80	0.75	0.30	0.25	0.25
	0.78			0.26		

(-) não detectado

Foram realizadas duas análises estatísticas distintas, uma para a quantificação da perda dos íons cálcio e outra para os íons fósforo.

A partir da não aderência à curva de normalidade das duas amostras testadas, optou-se pela realização do teste estatístico de Kruskal-Wallis para ambas as amostras. As tabelas 5.10 e 5.11 mostram as diferenças estatísticas entre grupos que apresentam diferentes técnicas:

Tabela 5.10 – Comparação dos postos das amostras para o íon cálcio

Amostras comparadas (comparação duas a duas)	Diferencia entre as médias	Significância (1%)
1 e 2	7.2500	NS
3 e 4	8.1250	NS
5 e 6	2.6250	NS
1 e 7	36.2500	S
2 e 7	29.0000	S
3 e 7	36.4375	S
4 e 7	28.3125	S
5 e 7	9.8125	NS
6 e 7	7.1875	NS

NS – não significativa S – significativa

Tabela 5.11 – Comparação dos postos das amostras para o íon fósforo

Amostras comparadas (comparação duas a duas)	Diferencia entre as médias	Significância (1%)
1 e 2	4.9375	NS
3 e 4	11.2500	S
5 e 6	8.0625	NS
1 e 7	33.1875	S
2 e 7	28.2500	S
3 e 7	39.8750	S
4 e 7	28.6250	S
5 e 7	12.5625	NS
6 e 7	4.5000	NS

NS – não significativa S – significativa

Os quadros 5.1 e 5.2 exibem as comparações realizadas entre o 1º, 7º e 14º de tratamento clareador nas diferentes técnicas empregadas. Para que estas comparações pudessem ser feitas houve a necessidade da realização de um novo teste de Kruskal-Wallis, já que nesta análise o fator de variação é o tempo e não mais a técnica utilizada. O nível de significância utilizado foi de 1%.

Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3			Grupo 4			Grupo 5			Grupo 6		
1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º
e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e
7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º
NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Quadro 5.1 – Comparação da perda de cálcio em diferentes tempos operatórios

NS – não significante S – significante

Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3			Grupo 4			Grupo 5			Grupo 6		
1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º	1º	7º	1º
e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e
7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º	7º	14º	14º
NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Figura 5.2 – Comparação da perda de fósforo em diferentes tempos operatórios

NS – não significante S – significante

Devido à rigorosa padronização com relação à densidade dos elementos dentais selecionados para a realização deste estudo e a alta sensibilidade e precisão do equipamento utilizado para a análise química das soluções avaliadas, elegeu-se 1% como nível de significância para todas as comparações efetuadas.

Os gráficos representados nas figuras 5.1 e 5.2 apresentam as médias das perdas de conteúdo mineral dos 8 grupos experimentais

Figura 5.1 – Valores médios da perda diária de cálcio (mg/L)

Figura 5.2 – Valores médios da perda diária de fósforo (mg/L)

Os gráficos 5.3 e 5.4 mostram o comportamento respectivamente de perda de cálcio e fósforo em função do tempo.

Figura 5.3 – Representação gráfica das perdas diárias de cálcio (mg/L)

Figura 5.4 – Representação gráfica das perdas diárias de fósforo (mg/L)

A tabela 5.12 mostra as médias das perdas de cálcio e fósforo de cada um dos grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 e seus respectivos desvios-padrão.

Tabela 5.12 – Médias em mg/L e desvios-padrão dos grupos experimentais

Grupos	Cálcio		Fósforo	
	Médias	Desvio-padrão ($\pm$)	Médias	Desvio-padrão ($\pm$)
1	0,36	$\pm 0,05$	0,12	$\pm 0,01$
2	0,40	$\pm 0,03$	0,13	$\pm 0,02$
3	0,36	$\pm 0,04$	0,11	$\pm 0,01$
4	0,40	$\pm 0,05$	0,13	$\pm 0,02$
5	0,73	$\pm 0,05$	0,22	$\pm 0,02$
6	0,77	$\pm 0,01$	0,28	$\pm 0,04$
7	1,23	$\pm 0,02$	0,38	$\pm 0,02$

5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As fotomicrografias revelam modificações topográficas nos grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

As imagens do grupo 8, que permaneceram imersos apenas em água MilliQ[®] não tiveram nenhum tipo de alteração.

Figuras 5.5 - Fotomicrografias do grupo 1 no 1° e 14° dias de clareamento

Figuras 5.6 - Fotomicrografias do grupo 2 no 1° e 14° dias de clareamento

Figuras 5.7 - Fotomicrografias do grupo 3 no 1° e 14° dias de clareamento

Figuras 5.8 - Fotomicrografias do grupo 4 no 1° e 14° dias de clareamento

Figuras 5.9 - Fotomicrografias do grupo 5 no 1° e 14° dias de clareamento

Figuras 5.10 - Fotomicrografias do grupo 6 no 1° e 14° dias de clareamento

Figuras 5.11 - Fotomicrografias do grupo 7 no momento inicial e após 15 segundos de condicionamento ácido

Figuras 5.12 - Fotomicrografias do grupo 8 no 1º e 14º dias de imersão em água

Pode-se observar nos grupos 5 e 6 um padrão de modificações superficiais semelhantes às alterações encontradas no grupo 7 que foi condicionado com ácido fosfórico.

A superfície de esmalte condicionada mostrou um padrão típico de desmineralização promovida pelo ácido fosfórico na concentração 37% aplicado durante 15 segundos.

Os grupos 1 e 2 , 3 e 4 mostraram diferentes padrões de calcificação das superfícies de esmalte , porém menos severas que as superfícies dos grupos 5, 6 e 7.

6 DISCUSSÃO

Desde 1989 quando a técnica do Clareamento de dentes Vitais com Protetor Noturno (HAYWOOD; HEYMANN, 1989) foi apresentada a toda comunidade odontológica o tratamento clareador tem sido apontado com uma alternativa conservadora para a melhora da estética do sorriso quando comparada às facetas e a microabrasão (BARATIERI et al., 2001; BARTLETT, 2001).

Apesar de autores afirmarem ser este um procedimento absolutamente seguro (HAYWOOD, 1992; RITTER et al., 2002; JOINER; THAKKER, 2004), muitas dúvidas ainda são levantadas a respeito dos possíveis efeitos deletérios provocados pelos produtos à base de peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida utilizados para remoção de manchas dentais intrínsecas que são resultado de uma complexa interação física e química entre o dente e o agente causador do manchamento (NATHOO, 1997).

Desta forma as investigações científicas continuam sendo realizadas com o objetivo de esclarecer as desconfiças que ainda persistem em torno do procedimento que se tornou tão popular ao longo dos últimos 15 anos.

Várias pesquisas que tiveram como objetivo avaliar a perda mineral decorrente do clareamento dental obtiveram resultados que não são passíveis de comparação.

O primeiro elemento a ser observado seria a padronização da área de esmalte exposta ao agente clareador. Alguns estudos não tiveram o cuidado com a limitação da região de esmalte que seria clareada (ROTSTEIN et al., 1996;

POTOCNIK; KOSEC; GASPERSIC, 2000; CREWS et al.,1997), deste modo a quantidade de gel clareador não era a mesma em todas as amostras.

McCracken e Haywood (1996) tiveram esta preocupação, mas realizaram a demarcação da superfície de esmalte com cera pegajosa. Este material talvez não seja o material mais adequado para esta função por ter uma pobre aderência promovendo um mau vedamento ao esmalte, o que possibilitaria o escoamento do gel aumentando a área de ação do material avaliado.

Desta forma julgou-se ser imprescindível uma cuidadosa delimitação da área da coroa dental a permanecer em íntimo contato com os agentes clareadores e com o ácido fosfórico. O cuidado na escolha dos incisivos centrais foi tomado para que não fossem selecionadas coroas com grande convexidade nos sentidos incisivo-gengival e mesio-distal, desta forma o contato do delimitador (êmbolo) com a face vestibular tornava-se justaposto.

Um outro aspecto é a padronização da densidade mineral. Em nenhum dos artigos, revisados nesta dissertação, que investigaram a alteração do conteúdo mineral do esmalte clareado tal standardização foi efetuada.

Spalding, Taveira e de Assis (2003) ressaltam a grande variação dos padrões encontrados no esmalte normal e afirmam ser necessário que um critério bem estabelecido seja adotado para que análises comparativas dos efeitos dos clareadores possam ser bem interpretadas.

Adachi (2001) salientou essa deficiência em sua metodologia. Seu estudo sobre a perda de massa revelou uma grande diferença entre o menor e o maior valor encontrado, resultando em desvios-padrão muito alto em seus resultados, e credita esta disparidade a possível diferença de calcificação das amostras dentais utilizadas.

Bitter (1992) ao avaliar microscopicamente superfícies de esmalte clareadas não conseguiu observar um padrão para as alterações superficiais e responsabiliza a variação da calcificação dos dentes utilizados.

Para não incorrer na mesma falha, todos os incisivos centrais foram submetidos a uma análise densitométrica. Desta forma os valores obtidos neste estudo refletem apenas as variações dos compostos utilizados (géis clareadores e ácido fosfórico) e não as diferenças do substrato.

Os equipamentos utilizados para avaliar a perda mineral do esmalte decorrente do clareamento foram os mais diversos: Espectroscopia de Absorção com Raio-X Dispersivo (ROTSTEIN et al., 1996; CREWS et al., 1997), Espectroscopia de Absorção no Infravermelho, Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Espectroscopia de Difração de Raio-X (CIMILLI; PAMEIJER, 2001), Espectroscopia Eletrônica de Análise Química (COVINGTON et al., 1990), Espectrofotômetro de Absorção Atômica (JUSTINO; TAMES; DEMARCO, 2004; MCCRACKEN; HAYWOOD, 1996). Percebendo que na literatura não havia uma concordância quanto ao método, optou-se pela utilização do Espectrofotômetro de Emissão Atômica por Indução de Plasma de Argônio Acoplado por ser um equipamento mais sensível que o Espectrofotômetro de Absorção Atômica e ter como característica a leitura simultânea de mais de 70 elementos químicos na mesma amostra (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A grande multiplicidade nos métodos de identificação e quantificação do conteúdo mineral também inviabiliza a comparação entre valores numéricos, uma vez que cada equipamento exprime seus valores em diferentes unidades de medida.

Um dos objetivos deste estudo foi quantificar a possível perda do íon flúor, contudo esta mensuração não foi realizada, uma vez que o sinal emitido para

detecção deste elemento químico foi muito baixo. O sinal de emissão baixo denota uma quantidade muito reduzida deste íon na amostra analisada. Esta baixa concentração se deve a menor quantidade deste elemento nos cristais que formam o esmalte dental humano (TEN CATE, 2001) quando comparados a quantidade de cálcio e fósforo, que juntos são responsáveis por aproximadamente 55,7% da composição do esmalte (SÖREMARK ; BERGMAN, 1961).

A alteração ocorrida no esmalte submetido ao condicionamento com ácido fosfórico é reconhecida desde o primeiro relato desta técnica (BUONOCORE, 1955). O condicionamento com ácido fosfórico das superfícies de esmalte das amostras deste estudo, promoveu perda de parte desta estrutura, evidenciada pela presença íons cálcio e fósforo na amostra coletada após o tempo de ação do composto, assim como demonstrado por Shey e Brant (1982).

Assim como as 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; POTONIC; KOSEC; GASPERSIC, 2000; ROTSTEIN et al., 1996) os resultados deste estudo mostraram que todos os materiais clareadores ocasionaram perdas de cálcio e fósforo, mas em diferentes graus.

Quando comparadas às perdas minerais geradas por clareadores da mesma marca comercial em diferentes concentrações (grupos 1 e 2; 3 e 4; 5 e 6), não foram encontradas diferenças estatisticamente significante. Desta forma a concentração de peróxido dos clareadores não influenciou nas quantidades de cálcio e fósforo perdidos.

Já quando confrontados os resultados tendo como variável a acidez dos clareadores, foi constatado que o pH influenciou na quantidade de cálcio e fósforo das amostras.

A acidez dos agentes clareadores pode ser creditada a dois fatores. Bitter (1992) já citava a presença dos ácidos cítrico e fosfórico no clareador Ultra White e ácido acético no Natural White.

Baratieri et al.(1994) ratifica a informação de que os produtos para clareamento dental teriam ácidos fosfórico e cítrico em sua composição. A análise espectrofotométrica realizada nesta investigação revelou quantidades traço de fósforo nos seis clareadores empregados. Os íons fósforo detectados sugerem a presença de ácido fosfórico na composição dos clareadores, já que os fabricantes declaram como componentes apenas o peróxido de carbamida ou hidrogênio (fórmula química – H_2O_2) e o espessante Carbopol de fórmula química $C_3H_4O_2$ (SCHWARZ; LEVY, 1958). Desta forma a vantagem da não necessidade de condicionamento ácido prévio ao clareamento na técnica de auto-aplicação (HAYWOOD; HEYMANN, 1989; HAYWOOD, 1992) tornando-a uma técnica mais conservadora é questionável, já que a presença da substância desmineralizante foi incorporada ao gel clareador.

O segundo componente responsável pela acidez dos géis seria uma característica química do espessante presente nos 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 (NEVEON PHARMACEUTICAL, 2005). 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 clareadores com pH mais baixo, VivaStyle – peróxido de carbamida 10% e 16%, resultaram em maiores perdas diárias dos íons quantificados, quantidades essas que se assemelham as quantidades perdidas pelas amostras condicionadas com ácido fosfórico 37% durante 15 segundos. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos 5 e 7 e entre os grupos 6 e 7.

Este mesmo resultado não foi encontrado por Adachi (2001), em seu estudo a perda de massa total média do esmalte depois de 30 aplicações com Opalescence foi de 15,05 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ enquanto a perda com condicionamento com ácido fosfórico foi de 154,2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, provavelmente essa diferença imensa foi encontrada porque o tempo total de condicionamento do esmalte foi de 30 segundos, além do clareador utilizado não ter um pH abaixo do ponto crítico para desencadeamento do processo de desmineralização do esmalte dental humano.

O presente estudo também avaliou a perda dos íons em função do tempo. Como visto nos quadros 5.1 e 5.2 não houve diferença estatística entre o 1° e o 7° dia e entre o 7° e 14° dia, em nenhum dos 6 grupos onde os clareadores eram testados. Este fenômeno pode ocorrer provavelmente pelo fato de que quando a camada mais superficial do esmalte é perdida durante uma aplicação do gel clareador uma camada subsuperficial é exposta, e esta camada subsuperficial tem a mesma composição mineral da camada mais externa (TEN CATE, 2001).

As comparações entre os efeitos acarretados pelo ácido fosfórico e pelos peróxidos descritas na literatura também foram avaliadas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura. Haywood, Houck e Heymann (1990) observaram e compararam superfícies condicionadas e clareadas e afirmaram que as superfícies clareadas com clareadores com diferentes pHs não apresentaram modificações significantes quando comparadas com as superfícies condicionadas com ácido,

todavia o ácido fosfórico 37% foi aplicado por 60 segundos sendo que o tempo preconizado atualmente é de 15 segundos para o esmalte.

Contrariamente, as fotomicrografias realizadas neste estudo se assemelham as imagens de MEV de Shanonn et al. (1993) e Wandera et al. (1994), cujas alterações topográficas superficiais mais severas foram causadas por agentes clareadores com pHs mais baixos.

Apesar das alterações superficiais mais severas aparecerem nos grupos tratados com os géis mais ácidos, todos os grupos demonstraram que em todas as superfícies de esmalte, expostas aos agentes clareadores, ocorreram modificações na topografia original. Essas alterações também foram encontradas por vários autores (CAVALLI et al., 2004; FLAITZ; HICKS, 1996; HEGEDÜS et al., 1999; MCGUCKIN; BABIN; MEYER, 1992; TURKUN et al., 2002; ZALKIND et al., 1996).

Apesar dos 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. 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. 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*. Da mesma forma, Leonardo Jr. et al. (2001) em seu estudo *in vivo*, não observaram mudanças na topografia do esmalte clareado.

Avaliar as implicações da perda de cálcio e fósforo decorrentes da dissolução da hidroxiapatita e da mudança da textura superficial pela ação dos agentes clareadores é de fundamental importância.

Com relação à resistência do dente vital clareado, estudos tentam por intermédio de testes de microdureza avaliar se o tratamento clareador diminui a resistência dos tecidos duros dentais, mas a literatura ainda é discordante.

Enquanto Shanonn et al. (1993) afirmaram não terem encontrado diferenças de microdureza das superfícies de esmalte clareadas com materiais à base de peróxido de carbamida 10% com diferentes pHs, resultados antagônicos foram encontrados por Lewinstein et al. (2004), que ao avaliar produtos para clareamento caseiro e de consultório registraram diminuição na dureza do esmalte clareado ao longo do tempo com ambas as técnicas utilizadas.

Duas situações distintas podem estar gerando a grande discordância da literatura com relação à microdureza de dentes clareados. A primeira hipótese seria a dimensão da ponta de diamante utilizada para a mensuração da microdureza das superfícies clareadas que no momento da mensuração poderia estar localizada em uma zona de irregularidade provocada pelo agente clareador. A segunda hipótese seria que a medida de dureza obtida após o procedimento clareador seria a dureza da camada subsuperficial que possivelmente apresente uma composição semelhante à camada superficial.

Mas a redução da microdureza do esmalte ocorrida logo após o término do tratamento clareador não teria grandes significados clínicos se for considerado o estudo de Rodrigues et al. (2001) que constatou uma redução da microdureza do esmalte durante o tratamento clareador, mas com uma recuperação dos valores nos

dias subsequentes ao tratamento clareador, graças à capacidade remineralizadora da saliva.

Mas a alteração superficial produzida pela dissolução da camada superficial do esmalte parece ser um evento que merece mais atenção por parte dos profissionais da Odontologia.

Estudos têm demonstrado que superfícies expostas aos agentes clareadores e com alterações de sua morfologia causam maior adesão de *Streptococcus mutans* (GÜRGAN; BOLAY; ALAÇAM, 1997; HOSOYA et al., 2003). Esse possível aumento do biofilme pode ocasionar problemas periodontais, recidivas de cáries e novos processos cariosos (QUIRYNEN; BOLLEN, 1995).

O aumento da rugosidade superficial pode ainda causar uma mudança da textura do esmalte acarretando variações no brilho do elemento dental.

Este estudo mostrou que as técnicas de clareamento de auto-aplicação com agentes clareadores em diferentes concentrações e com diferentes pHs promovem perdas de cálcio e fósforo em diferentes graus, essas perdas podem atingir quantidades semelhantes às aquelas causadas pelo ácido fosfórico. As fotomicrografias revelaram que essa dissolução da hidroxiapatita gerou superfícies mais porosas que talvez precisem de supervisão mais cuidadosa do cirurgião-dentista ou a adoção de um protocolo que minimize os efeitos indesejados causados pelo tratamento clareador.

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada para este estudo e com base nos resultados obtidos é possível concluir que:

7.1 O clareamento de auto-aplicação causou a perda de cálcio e fósforo. O elemento químico flúor não foi detectado.

7.2 O pH dos agentes clareadores teve influência na perda mineral do esmalte humano sendo que os clareadores com pH ácido resultaram em maiores perdas, quantidades essas semelhantes às perdas quando o tratamento foi o condicionamento ácido por 15 segundos.

7.3 A concentração, dos agentes clareadores com o mesmo pH, não influenciou na quantidade de íons cálcio e fósforo perdidos pelo esmalte dental humano.

7.4 As perdas diárias do conteúdo mineral não foram influenciadas pelas repetidas aplicações dos agentes clareadores.

7.5 As fotomicrografias revelaram que todas as superfícies de esmalte submetidas aos diferentes procedimentos clareadores mostraram alterações de suas topografias originais. Irregularidades mais severas foram notadas com a utilização de produtos clareadores com pH ácido, em algumas áreas estas modificações se

assemelharam às alterações causadas pelo condicionamento ácido por 15 segundos.

REFERÊNCIAS¹

- Adachi E M. Estudo "*in vitro*" da perda de massa dental humana com o uso de agente clareador caseiro à base de peróxido de carbamida a 10%, comparado ao condicionamento com ácido fosfórico a 37%, utilizando o método radiométrico [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.
- Aschheim KW, Dale BG. Esthetic dentistry: a clinical approach to techniques and materials. 2nd ed. St. Louis : Mosby; 2001.
- Baratieri LN, Monteiro Junior S, Andrada MAC, Vieira LCC. Clareamento dental. São Paulo: Santos; 1994.
- Baratieri LN, Monteiro Junior S; Andrada MAC; Vieira LCC; Ritter AV; Cardoso AC; et al. Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades. São Paulo: Santos; 2001.
- Bartlett D. Bleaching discoloured teeth. Dent Update 2001;28(1):14-8.
- 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.
- Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 1955;34(6):849-53.
- Busato ALS, Macedo RP, Panitz P, Salvij J, Marco M, Sari M, et al. Clareamento de dentes escurecidos. RGO 1986;34(6):497-500.
- Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, Ambrosano GM. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. J Oral Rehabil 2004;31(2):155-9.

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

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.

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.

Covington JS, Friend GW, Lamoreaux WJ, Perry T. Carbamide peroxide tooth bleaching: Effects on enamel composition and topography [abstract 530]. *J Dent Res* 1990;69(sp issue):175.

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

Fasanaro TS. Bleaching teeth: history, chemicals, and methods used for common tooth discolorations. *J Esthet Dent* 1992;4(3):71-8.

Flaitz CM, Hicks MJ. Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: an SEM and polarized light microscopic in vitro study. *ASDC J Dent Child* 1996;63(4):249-56.

Goldstein RE, Garber DA. Complete dental bleaching. Chicago: Quintessence Pub. Co.; 1995.

Gürgen S, Bolay S, Alaçam R. In vitro adherence of bacteria to bleached or unbleached enamel surfaces. *J Oral Rehabil* 1997;24(8):624-7.

Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int* 1992;23(7):471-88.

Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int* 1989;20(3):173-6.

Haywood VB, Houck VM, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: Effects of various solutions on enamel surface texture and color. *Quintessence Int* 1991;22(10):775-82.

Haywood VB, Leech T, Heymann HO, Crumpler D, Bruggers K. Nightguard vital bleaching: effects on enamel surface texture and diffusion. *Quintessence Int* 1990;21(10):801-4.

Hegedüs C, Bistey T, Flora-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999; 27(7):509-15.

Hosoya N, Honda K, Iino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. *J Dent* 2003;31(8):543-8.

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

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.

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(4):337-42.

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 Restorative Dent* 2001;13(2):132-9.

Maliska AM. Microscopia eletrônica de varredura. Florianópolis; 2004. [Apostila do Laboratório de caracterização microestrutural e análise de imagens do Departamento de Engenharia Mecânica - Universidade Federal de Santa Catarina].

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.

Nathoo SA. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. J Am Dent Assoc 1997;128 Suppl:6S-10S.

Noveon Pharmaceutical. Carbopol® Polymers in Pharmaceutical. Disponível em: URL:<http://www.pharma.noveoninc.com/products/carbopol.asp> [2005 May 7].

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.

Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. J Clin Periodontol 1995;22(1):1-14.

Ritter AV, Leonard RH Jr, St Georges AJ, Caplan DJ, Haywood VB. Safety and stability of nightguard vital bleaching: 9 to 12 years post-treatment. J Esthet Restor Dent 2002;14(5):275-85.

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

Rosenthal E. Os dentes e o folclore no Brasil . São Paulo: Instituto Museu e Biblioteca de Odontologia de São Paulo, Ysayama; 1998.

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.

Schwarz TW, Levy G. A report on the oxidative degradation of neutralized carbopol. J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc (Baltim) 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.

Shey Z, Brandt S. Enamel loss due to acid treatment for bonding. J Clin Orthod 1982;16(5):338-40.

Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Princípios de análise instrumental. 5ª ed. Trad. de Ignez Caracelli. Porto Alegre: Bookman; 2002.

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 Restorative Dent* 2003;15(3):154-64.

Söremark R, Bergman B. Gamma-ray spectrometric analysis of elements in normal human enamel. *Arch Oral Biol* 1961;6(5):275-83.

Ten Cate AR. *Histologia bucal:desenvolvimento, estrutura e função*. 5ª ed.Trad. de Andrea Braga Maleri. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

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

Wandera A, Feigal RJ, Douglas WH, Pintado MR. Home-use tooth bleaching agents: an in vitro study on quantitative effects on enamel, dentin, and cementum. *Quintessence Int* 1994;25(8):541-6.

Zalkind M, Arwaz JR, Goldman A, Rotstein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. *Endod Dent Traumatol* 1996;12(2):82-8.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo

PARECER DE APROVAÇÃO **Protocolo 05/05**

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa *"Efeitos do clareamento na composição química do esmalte dental humano"*, de responsabilidade da Pesquisadora **Alessandra Pereira de Andrade**, sob orientação do Professor Doutor **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 fevereiro de 2005

Prof.Dr. Rogério Nogueira de Oliveira
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B – Valores originais das perdas diárias de cálcio (mg/L).

grupo	dias							
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	14°
1	1.7	1.6	1.65	1.45	1.6	1.5	1.52	1.45
	1.6	1.6	1.6	1.6	1.5	1.45	1.55	1.5
	1.6	1.6	1.65	1.6	1.6	1.5	1.6	1.5
2	1.55	1.6	1.6	1.64	1.6	1.55	1.6	1.65
	1.7	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.5	1.6
	1.7	1.6	1.6	1.65	1.6	1.55	1.55	1.65
3	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.5	1.6
	1.6	1.65	1.6	1.6	1.65	1.5	1.55	1.5
	1.7	1.5	1.5	1.6	1.5	1.5	1.5	1.5
4	1.6	1.65	1.6	1.5	1.65	1.7	1.65	1.5
	1.6	1.65	1.6	1.6	1.65	1.65	1.58	1.5
	1.6	1.65	1.65	1.6	1.65	1.7	1.55	1.55
5	1.85	2.0	1.85	1.85	2.0	1.95	1.95	1.9
	1.9	2.0	1.9	1.9	2.0	2.0	2.0	1.9
	1.9	2.0	1.85	1.9	2.0	2.0	1.95	1.9
6	2.02	1.95	2.0	2.05	1.95	1.92	1.95	2.0
	2.0	1.95	2.0	2.0	1.95	2.0	2.05	2.0
	1.9	1.95	1.91	1.95	1.95	2.0	2.0	1.95
7	2.5							
	2.4							
	2.4							
8	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-

ANEXO C – Valores originais das perdas diárias de fósforo (mg/L).

grupo	dias							
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	14°
1	1.63	1.68	1.68	1.63	1.68	1.63	1.63	1.63
	1.65	1.63	1.68	1.65	1.63	1.63	1.67	1.63
	1.71	1.68	1.68	1.68	1.68	1.63	1.63	1.68
2	1.62	1.73	1.63	1.68	1.73	1.73	1.63	1.73
	1.63	1.73	1.73	1.71	1.73	1.63	1.68	1.68
	1.63	1.63	1.63	1.68	1.63	1.63	1.63	1.68
3	1.68	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63
	1.68	1.63	1.63	1.63	1.68	1.65	1.63	1.67
	1.68	1.63	1.68	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63
4	1.68	1.63	1.63	1.63	1.63	1.73	1.68	1.68
	1.63	1.68	1.63	1.68	1.68	1.73	1.71	1.63
	1.63	1.68	1.68	1.63	1.68	1.68	1.68	1.66
5	1.73	1.73	1.73	1.73	1.83	1.73	1.78	1.73
	1.78	1.77	1.73	1.73	1.78	1.78	1.83	1.73
	1.78	1.73	1.73	1.78	1.73	1.78	1.73	1.68
6	1.78	1.78	1.78	1.83	1.83	1.80	1.78	1.83
	1.83	1.83	1.83	1.83	1.83	1.88	1.88	1.78
	1.83	1.88	1.83	1.83	1.88	1.80	1.88	1.78
7	1.93							
	1.93							
	1.88							
8	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-