HELENA BURLAMAQUI PINHEIRO

Influência de materiais bioativos sobre a dureza, ultraestrutura e conteúdo mineral de dentes clareados: estudo *in situ*

São Paulo

2012

HELENA BURLAMAQUI PINHEIRO

Influência de materiais bioativos sobre a dureza, ultraestrutura e conteúdo mineral de dentes clareados: estudo *in situ*

Versão Corrigida

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

Área de Concentração: Materiais Dentários

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Capel Cardoso

São Paulo

2012

Pinheiro HB. Influência de materiais bioativos sobre a dureza, ultraestrutura e conteúdo mineral de dentes clareados: estudo *in situ*. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: / /2012

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho

à minha avó **Maria Isabel**, cuja inquietação intelectual, determinação, firmeza de princípios e eterna busca por conhecimento são algumas de suas qualidades mais marcantes. A distância física é difícil de suportar, mas sua energia contagiante sempre estará ao meu lado e ao de todos que tiveram o prazer do convívio saudável; incluo-me na relação daqueles que a amam eternamente.

aos meus pais **Sérgio e Annie**, cujo apoio incondicional às minhas decisões me permitiram alcançar grandes objetivos e chegar até aqui, me fazendo sentir tão amada e tão grata a vocês. Honestidade, respeito e ética foram alguns dos valores que sempre estiveram presentes em suas ações e que tiveram um papel fundamental para minha formação pessoal e profissional; e

ao meu marido **Alexandre**, às minhas meninas **Nina e Chili**, e ao mais novo membro da família, **Pedro**, razões de viver cheia de amor, carinho, apoio e incentivo. Divido com vocês os sonhos e as conquistas de cada dia.

Agradeço,
de modo especial,

ao **Prof. Paulo Capel**, por ter assumido a orientação cuidadosa deste trabalho e por ter dividido comigo tanto conhecimento. Agradeço toda confiança que depositou em mim e a grande amizade conquistada ao longo desses seis anos. Tenho certeza de que aprendi muito ao seu lado e quero contar com sua amizade hoje e sempre; e

à **Profa. Eliza Klautau**, pelo gosto à pesquisa que despertou em mim. Obrigada pelo incentivo, amor e carinho que sempre me dá.

Saibam que foram vocês que me fizeram chegar até aqui, pelo apoio, incentivo e orientação fundamentais para que eu superasse as dificuldades encontradas ao longo do caminho. Mas que um muito obrigada, um imenso querer bem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,
de modo afetivo,

ao meu irmão **Nelson**, por todo carinho, incentivo e torcida.

à tia **Rosa** e vó **Celeste**, pela contribuição valiosa para minha educação, ajudando-me a superar limites.

à **Jussara** e **Marco Antônio**, pelo carinho com que me acolheram nesta cidade, por toda torcida e palavras de incentivo.

à **Jomara**, grande amiga, incentivadora e colaboradora, cujas sugestões foram muito úteis a este trabalho. Seu auxílio extremamente cuidadoso foi fundamental ao longo desses anos.

ao **Edson Berbary**, professor que teve disposição em fazer a revisão cuidadosa deste trabalho, com tanto carinho, próprio de um verdadeiro mestre.

ao **Prof. Muench**, por toda ajuda com a estatística deste trabalho, sua dedicação e disponibilidade à pesquisa são exemplos a serem seguidos.

à **Liz**, pelo carinho com que sempre me tratou, por toda competência, dedicação e cuidado que dispôs à este trabalho. Obrigada pela companhia sempre muito agradável e por tudo que me ensinou nas inúmeras horas que passamos juntas.

à **Alessandra Andrade**, por me ensinar a usar o QLF e por colaborar com dicas preciosas. Sua atenção e delicadeza foram muito importantes para mim.

ao **Prof. Rafael**, por toda compreensão que teve comigo, pelas dicas de formatação de texto e pelo auxílio na impressão das imagens deste trabalho.

ao **Prof. Fernando Nogueira**, por sempre me atender tão bem, apontando-me caminhos e prontamente respondendo às minhas dúvidas.

a todos os **professores do Departamento de Materiais Dentários**, pela convivência, amizade e aprendizado científico proporcionado.

à **Letícia Boaro**, pessoa alegre, extrovertida, carinhosa, um verdadeiro “São Bernardo”. Obrigada por prontamente me ajudar nas horas em que eu precisava e por me fazer rir de tantas situações. À **Marina DiFrancescantônio**, pelas conversas construtivas, momentos de descontração e por todo carinho que me dá. Sinto muito sua falta! À **Luana Campos**, pela alegria de viver, pelas frases de impacto, por nos proporcionar momentos tão divertidos. Obrigada por terem sido voluntárias dessa pesquisa, e pela viagem maravilhosa que tivemos juntas. Adoro vocês, cisnes!

à **Rosinha**, por sua paciência, carinho e disponibilidade. Seu auxílio foi fundamental em muitos momentos deste trabalho.

ao **Antônio**, por toda ajuda que tem me dado durante a pós graduação. Sua dedicação, disponibilidade e vontade de fazer algo sempre melhor são um exemplo.

à **Eli**, pelas conversas, palavras de carinho e incentivo.

ao amigo **Emerson Martins**, por ser uma pessoa íntegra e gentil, pelas conversas, almoços e trocas de experiência.

ao **Flávio Umeda**, pela companhia e por participar de nossa pesquisa clínica de forma tão ativa e dedicada.

aos queridos **Bruno Lopes** e **Maria Cecília Cersosimo** pelas horas que passamos juntos e pela dedicação de cada um de vocês. Foi muito prazeroso poder dividir um pouco do conhecimento que adquiri ao longo desses anos com vocês.

aos amigos **Luciana Katty, Tathy, André, Flavinha, Fernando, Karen, Ricardo, Maurício, Vinícius, Renata, Bruno, Carina, Inada, Lylia, Lucas, Marcela e**

Bruna, pelos inúmeros momentos alegres que passei com cada um de vocês, pelas viagens, conversas e por tudo que aprendi com vocês.

Agradeço,
de modo institucional,

ao **Laboratório de Caracterização Tecnológica** do Departamento de Minas e Petróleo da Escola Politécnica da USP, pela disponibilidade de uso do microscópio.

ao **Laboratório do Departamento de Dentística da FOU SP**, em especial à **Profa. Miriam Turbino** pelo uso do laboratório para preparo das amostras de microscopia, e à **Soninha**, por todo auxílio dado.

à **Capes** pela bolsa de estudo concedida.

RESUMO

Pinheiro HB. Influência de materiais bioativos sobre a dureza, ultraestrutura e conteúdo mineral de dentes clareados: estudo *in situ* [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão corrigida.

Objetivo: Investigar *in situ* a influência de materiais bioativos sobre a superfície do esmalte e dentina clareados, utilizando o teste de dureza Knoop (KHN), microscópio por emissão de campo (FEG) e quantificação do conteúdo mineral por fluorescência do substrato dental (QLF). **Material e Métodos:** Vinte molares humanos intactos foram selecionados. Para KHN e FEG, foram necessários 10 dentes. Foram obtidos 6 espécimes da porção cervical de cada dente, contendo esmalte e dentina, e distribuídos entre os 5 grupos experimentais, mais um controle (n=10). O grupo controle (sem tratamento) foi utilizado para o FEG, pois neste tipo de análise há destruição da amostra, não sendo possível a utilização de um mesmo espécime para obtenção de imagens nas fases antes e após o tratamento. Para o teste de dureza, as fatias tiveram os valores iniciais de dureza do esmalte e dentina medidos. Para o QLF, foram usados outros 10 dentes. Cada um foi seccionado em 5 fragmentos de esmalte superficial, retirados da porção coronária de cada dente. Metade de cada espécime foi protegida com verniz e a outra metade serviu para entrar em contato com os diversos tratamentos. Os fragmentos tiveram a quantificação mineral inicial medida pelo QLF. Todos os espécimes foram montados em retentores palatinos intraorais e usados por 10 voluntários durante 24h/dia, por 14 dias. Em cada dispositivo, eram aplicados os 5 diferentes tratamentos: 1: Opal, tratamento clareador com peróxido de carbamida (PC) 15% - Opalescence PF, Ultradent; 2: NiteWhite ACP, PC16% (Philips); 3: Opal + Bio (Biosilicato®, Vitrovita) misturados; 4: Opal → Bio (Biosilicato® aplicado por 5 min, 1 vez por semana após clareamento); 5: Opal → Rel ACP, Relief ACP (Philips) aplicado por 30 min por dia após clareamento. Em seguida, foram realizadas análises finais de KHN, FEG e QLF. **Resultados:** A análise estatística revelou que no grupo Opal houve redução significativa dos valores de dureza em esmalte. No grupo Opal → Bio, a aplicação do material bioativo não foi capaz de evitar a desmineralização do esmalte. Para os

demais grupos, não houve alteração dos valores de dureza. Na dentina, o grupo Opal também causou diminuição na dureza. Nos grupos Opal → Bio e Opal → Rel ACP, a aplicação dos dois materiais bioativos não foi suficiente para evitar diminuição dos valores de dureza em dentina. Já nos grupos NW ACP e Opal + Bio, não foi observada desmineralização desse substrato. Os dados de dureza refletem os resultados observados na análise ultraestrutural do esmalte e da dentina, em que os grupos NW ACP e Opal + Bio apresentaram os melhores desempenhos em relação aos demais grupos. A análise por QLF não apresentou sensibilidade para detectar diferenças estatisticamente significantes entre os grupos e nem entre as fases inicial e final em nenhum dos grupos. **Conclusão:** No grupo Opal, observa-se desmineralização do esmalte e dentina clareados. A aplicação de Biosilicato® 1x por semana não foi suficiente para evitar alterações em esmalte e dentina. Relief ACP, aplicado diariamente após o tratamento clareador, foi capaz de evitar alterações em esmalte, mas não em dentina. A mistura de um gel clareador com um agente bioativo, como acontece nos grupos NW ACP e Opal + Bio, teve influência positiva em relação à dureza e morfologia da estrutura dental evitando sua desmineralização; nesses dois grupos, foram observados os melhores resultados tanto de dureza, quanto na análise ultraestrutural.

Palavras-chave: Biomateriais. Clareamento. Desmineralização. Esmalte. Dentina.

ABSTRACT

Pinheiro HB. Changes after whitening: bioactive materials benefits- *in situ* study [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão corrigida.

Objective: To Investigate *in situ* the influence of bioactive materials on whitened enamel and dentin surfaces using Knoop hardness test (KHN), field emission microscope (FEG) and quantitative light-induced fluorescence (QLF). **Material and Methods:** Twenty intact human molars were selected. Ten teeth for KHN and FEG were used. Six specimens were obtained from the cervical portion of each tooth, containing enamel and dentin. The slices were distributed into five experimental groups and one control (n=10). The control group (no treatment) was used for the FEG images, as this type of analysis destroys the sample, making it impossible to use the same specimens for before and after treatment images. For the hardness test, the enamel and dentin baseline Knoop hardness were measured for each slice for the control group and the five experimental groups. For QLF the other 10 teeth were used, each one sectioned into 5 superficial enamel slices. Half of each specimen was protected with varnish and the other half used to be in contact with the different treatments. The specimens had their baseline mineral content values measured by QLF. All specimens were mounted on intra-oral palatal retainers, which were used by 10 volunteers during 24h/day for 14 days. On each retainer five different treatments were applied: 1: Opal, whitening treatment (WT) with Opalescence PF, 15% carbamide peroxide (CP) (Ultradent); 2: NW ACP, whitening treatment with NiteWhite ACP, 16% CP (Philips); 3: Opal + Bio (Biosilicate®, Vitrovita) mixed; 4: Opal → Bio (Biosilicate® applied for 5 minutes once a week after WT; 5: Opal → Rel ACP, Relief ACP (Philips) applied 30 min per day after WT. Afterward, further KHN, FEG and QLF analysis were performed. **Results:** A statistical analyses revealed that the Opal group had a significant enamel hardness decrease. In the Opal → Bio group, the application of the bioactive material was not able to prevent enamel demineralization. For the other groups changes in the hardness values were not observed. The Opal group also caused hardness decrease

in the dentin. In the Opal → Bio and Opal → Rel ACP groups the application of the two bioactive materials was not enough to prevent the dentin hardness decrease. In the NW ACP and Opal + Bio groups demineralization of the substrate was not observed. The hardness data reflect the results observed in the ultra structural analysis of enamel and dentin, which groups NW ACP and Opal + Bio showed better performance compared to other groups. The QLF analysis was not sensitive enough to detect statistically significant differences between groups or between the initial and final phases in either groups. **Conclusion:** Enamel and dentin demineralization was observed for the Opal group. The application of Biosilicato® once a week was not enough to prevent enamel and dentin alterations. Relief ACP, applied daily after the whitening treatment, prevented changes in enamel but not in the dentin samples. The bioactive materials, when incorporated in the whitening gel (NW ACP and Opal + Bio groups), deliver positive benefits for tooth hardness and morphology, preventing demineralization; in both groups better hardness and morphology results were observed.

Keywords: Biomaterials. Bleaching. Demineralization. Enamel. Dentin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1-	Esquema ilustrativo do delineamento experimental	42
Figura 4.2-	Dispositivo intraoral com os espécimes fixados no palato. Cinco espécimes para a análise por QLF™ e seis para ensaio de dureza (KHN) e análise ultraestrutural (FEG-SEM).....	44
Figura 4.3-	Kit de higiene oral fornecido para cada um dos voluntários da pesquisa (1); dispositivo palatino intraoral (2); estojo para armazenar o dispositivo (3).....	45
Figura 4.4-	Recipiente para manter o ambiente úmido	46
Figura 4.5-	Equipamento QLF™ System	49
Figura 5.1-	Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em esmalte, após aplicação dos diferentes tratamentos.....	54
Figura 5.2-	Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em dentina, após aplicação dos diferentes tratamentos.....	55
Figura 5.3-	Esmalte dental submetido a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 100.000x.....	56
Figura 5.4-	Dentina tubular submetida a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 5.000x.....	58
Figura 5.5-	Dentina tubular submetida a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 20.000x.....	58
Figura 5.6	Dentina intertubular submetida a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 100.000x	60
Figura 5.7-	Média dos valores iniciais e finais de ΔQ , após aplicação dos diferentes tratamentos em esmalte	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1-	Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos do peróxido de carbamida e de hidrogênio sobre o esmalte e a dentina	20
Tabela 2.2-	Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos dos clareadores convencionais de uso caseiro à base de peróxido de carbamida ou de hidrogênio sobre a morfologia do esmalte, da dentina e da junção amelo-cementária	24
Tabela 2.3-	Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos dos clareadores convencionais de uso caseiro à base de peróxido de carbamida ou de hidrogênio sobre a dureza do esmalte e da dentina	26
Tabela 4.1-	Descrição dos grupos experimentais, marca comercial e fabricante, tipo de tratamento realizado, composição básica dos produtos, período e número total de aplicações dos materiais	39
Tabela 4.2-	Critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos da pesquisa	40
Tabela 4.3-	Grau das alterações no esmalte	48
Tabela 4.4-	Grau das alterações na dentina tubular e intertubular	49
Tabela 5.1-	Valores de pH dos materiais usados no estudo	52
Tabela 5.2-	Média e desvio-padrão inicial (0) e final (1) dos valores de microdureza Knoop (KHN) para os tecidos esmalte (E) e dentina (D)	53
Tabela 5.3-	Análise de Variância dos escores das alterações encontradas em esmalte	57
Tabela 5.4-	Médias e desvios-padrão (escore das alterações em esmalte) e contrastes obtidos com o teste de Tukey ($p=0,05$)*	57
Tabela 5.5-	Análise de Variância dos escores das alterações encontradas em dentina tubular	59
Tabela 5.6-	Médias e desvios-padrão (escore das alterações em dentina tubular) e contrastes obtidos com o teste de Tukey ($p=0,05$)*	60
Tabela 5.7-	Análise de Variância dos escores das alterações encontradas em dentina intertubular	61

Tabela 5.8- Médias e desvios-padrão (escore das alterações em dentina intertubular) e contrastes obtidos com o teste de Tukey ($p=0,05$)*	61
Tabela 5.9- Médias dos ΔQ nas fases inicial e final e teste de Friedman* com as suas diferenças (final-inicial).....	62
Tabela 5.10- Médias e desvios-padrão dos ΔQ nas fases inicial e final com as suas diferenças (final-inicial) e teste t pareado, para cada um dos tratamentos	63

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1	Influência dos clareadores sobre a estrutura dental	19
2.2	Métodos para analisar a estrutura dental clareada	23
2.3	Substâncias usadas para minimizar os efeitos dos clareadores sobre a estrutura dental.....	30
3	PROPOSIÇÃO.....	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Grupos experimentais	38
4.2	Seleção dos voluntários	40
4.3	Seleção dos dentes e preparo dos espécimes	40
4.4	Confecção dos dispositivos palatinos intraorais	43
4.5	Fase intraoral	44
4.6	Ensaio de dureza	46
4.7	Análise ultraestrutural.....	47
4.8	Quantificação do conteúdo mineral pelo método de fluorescência do substrato dental (QLF™).....	49
5	RESULTADOS	52
5.1	pH dos géis	52
5.2	Análise de dureza	52
5.3	Análise ultraestrutural.....	55
5.4	Análise do conteúdo mineral por fluorescência do substrato dental	62
6	DISCUSSÃO	65
6.1	Análise de dureza	66
6.2	Análise ultraestrutural.....	68
6.3	Análise do conteúdo mineral por fluorescência do substrato dental	72
7	CONCLUSÕES	75
	REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

Pesquisas têm mostrado que os agentes clareadores podem causar alterações no conteúdo mineral dos dentes^[1], resultado da desmineralização do esmalte e da dentina e, como consequência, gerar efeitos indesejáveis à estrutura dental, como aumento da rugosidade^[2-4], diminuição da dureza^[5-7] e alteração da morfologia superficial^[7-9].

Uma outra consequência da desmineralização provocada pelo tratamento clareador é a hipersensibilidade dental^[9, 10]. Muito observada pelos clínicos e pacientes é, sem dúvida, o maior efeito adverso ao tratamento clareador. Sua prevenção e tratamento são um desafio para o cirurgião-dentista^[2, 10-14].

Desta forma, um dos grandes problemas em utilizar géis clareadores que tenham potencial de causar desmineralização está no fato de que esses produtos podem entrar em contato com áreas de dentina exposta como em regiões de recessão gengival e áreas com lesão não cariosa e, com isso, provocar desobstrução dos túbulos dentinários, causando efeitos indesejáveis como a hipersensibilidade trans e pós tratamento clareador. Esse fenômeno também pode ser causado pela simples penetração de peróxido durante o tratamento clareador, por meio do esmalte e da dentina até a polpa^[15], ou até mesmo, via desidratação provocada pela natureza anidra de algumas substâncias encontradas nos clareadores^[16].

Para detectar processos de desmineralização na estrutura dental, destacam-se a utilização do ensaio de dureza e da análise topográfica superficial^[17]. Com esses dois recursos, pode-se avaliar o esmalte e a dentina clareados, porque alterações superficiais provocadas por géis clareadores têm relação com a desmineralização dental e mudanças nos valores de dureza refletem perda ou ganho de mineral^[17-20].

No caso da análise topográfica, devem ser observadas alterações que ocorrem na estrutura dental através de imagens obtidas em grandes aumentos, cujos detalhes podem ser analisados com maior precisão. Para isso, é necessária a utilização de ferramentas específicas, por exemplo, o microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FEG-SEM)^[7, 9, 21]. Este equipamento gera imagens de alta resolução, tendo capacidade de revelar estruturas na ordem de nanômetros

e mostrar a distribuição dos cristais em esmalte e das fibras colágenas na dentina. Esta já é uma conduta utilizada há algum tempo em estudos de desmineralização-remineralização (des-re) em lesão cariosa^[22].

Outro método que também permite a obtenção de respostas em termos de des-re do esmalte é a quantificação mineral por fluorescência do substrato dental, onde alterações no conteúdo mineral podem ser detectadas^[23].

Preocupada com os efeitos adversos ao clareamento dental, a indústria odontológica tem desenvolvido géis clareadores que trazem em suas formulações a adição de substâncias remineralizantes e dessensibilizantes, como o flúor e nitrato de potássio^[24, 25]. Contudo essas substâncias não resolvem o problema em sua plenitude, além de não interromper o processo de desmineralização provocado pelo clareamento no esmalte e na dentina humanos^[8, 21].

A comunidade científica tem investido bastante tempo e recursos no desenvolvimento de materiais bioativos para serem utilizados como agentes remineralizantes e consequentemente dessensibilizantes, podendo-se citar o ACP (Amorphous Calcium Phosphate)^[26], o CPP-ACP (Casein Phosphopeptide e Amorphous Calcium Phosphate)^[27], a nano hidroxiapatita^[28], os vidros e as vitrocerâmicas^[9], embora as pesquisas neste campo ainda sejam pouco numerosas^[27, 29-31]. Os materiais bioativos têm como objetivo promover a remineralização da estrutura dental, baseando-se na formação de uma camada de fosfato de cálcio amorfo na superfície em que o produto é aplicado e, posterior incorporação de íons hidroxila, carbonato e flúor provenientes do meio oral, iniciando a cristalização dessa camada superficial em forma de apatita^[26].

Essa nova estratégia pode ser benéfica, pois a utilização de substâncias bioativas tem se mostrado efetiva na condição de medida preventiva da cárie, sendo encontradas em diversos produtos como os dessensibilizantes, dentifrícios, fio dental, compósitos, selantes, gomas de mascar^[32-34].

Talvez o uso combinado de géis clareadores e materiais bioativos possa contribuir para um tratamento clareador que cause menos desmineralização na estrutura dental e, consequentemente, diminuição da incidência de hipersensibilidade trans e pós tratamento. Contudo existem poucos dados na literatura no que diz respeito ao uso de materiais bioativos, concomitantemente ao tratamento clareador^[14, 21].

Considerando-se que a maioria das pesquisas que analisam os efeitos dos clareadores sobre a estrutura dental apresentam limitações inerentes aos estudos *in vitro*^[35, 36], a extrapolação desses resultados para a clínica torna-se difícil^[37]. Já os estudos *in situ*, apesar de mais trabalhosos, fornecem respostas mais interessantes e realísticas, pois levam em consideração as condições orais como o efeito remineralizante e umidificante da saliva humana sobre a estrutura dental, a presença de bactérias, proteínas e íons, impossíveis de serem reproduzidos *in vitro*^[38].

O propósito desse estudo é, então, o de investigar, *in situ*, a influência de materiais bioativos sobre a dureza, ultraestrutura e conteúdo mineral de dentes humanos clareados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Influência dos clareadores sobre a estrutura dental

O clareamento dental é um tratamento factível graças à capacidade de penetração dos agentes clareadores (peróxido de hidrogênio) através da estrutura dental e à interação físico-química, criada ao entrarem em contato com os tecidos dentais mineralizados^[39].

Como a dentina e o esmalte são estruturas permeáveis ou semipermeáveis, os subprodutos dos peróxidos, por terem baixo peso molecular, são capazes de difundirem-se livremente por essas estruturas^[40-43]. Conhecer o processo envolvido durante o clareamento de dentes vitais é essencial para poder entender como ocorre a interação dos clareadores com a estrutura dental e considerar os potenciais efeitos adversos causados por eles.

Os principais ingredientes dos géis clareadores são: peróxido de carbamida ou hidrogênio (ingredientes ativos do clareamento), glicerina ou propilenoglicol (veículos) e carbopol (espessante). Um pH ligeiramente ácido confere estabilidade ao gel (“tempo de prateleira”), então pequenas quantidades de ácido fosfórico ou cítrico também são adicionadas^[15].

2.1.1 Alterações estruturais em esmalte e dentina que podem ser provocadas pelos uso de géis clareadores

Desde que os clareadores e seus subprodutos tenham capacidade de interagir com a estrutura dental e transitar livremente pelo esmalte e pela dentina^[44, 45], é possível que alterações na estrutura dental ocorram^[20]. Muitas pesquisas mostram que os agentes clareadores convencionais podem causar alterações na estrutura dental, dentre elas: mudanças no conteúdo mineral dos tecidos^[1, 17, 46-49], aumento de porosidade^[50-53] e permeabilidade do esmalte^[43], aumento das

irregularidades das margens de esmalte e evidência de periquimácias^[12], desobstrução de túbulos dentinários expostos^[9], alteração da dentina intertubular^[11] e da junção amelo-cementária^[12], degradação de colágeno na dentina^[54], assim como diminuição estatisticamente significativa dos valores de dureza em esmalte e dentina^[16, 55, 56].

A influência dos clareadores à base de peróxido de carbamida ou hidrogênio sobre as propriedades físico-químicas do esmalte e da dentina tem sido bastante estudada e pode ser observada na literatura por diferentes tipos de pesquisa. Na tabela 2.1, pode-se observar os efeitos do peróxido de carbamida (10% a 37%) e do peróxido de hidrogênio (5,3% a 38%) sobre o esmalte e a dentina, por meio de estudos *in vitro* e *in situ*.

Tabela 2.1- Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos do peróxido de carbamida e de hidrogênio sobre o esmalte e a dentina

Tipo de análise	Com alterações observadas		Sem alterações significantes observadas	
	<i>in vitro</i>	<i>in situ</i>	<i>in vitro</i>	<i>in situ</i>
Morfologia superficial do esmalte	[3, 50, 52, 57-64]	-	[1, 65-73]	[60]
Morfologia superficial da dentina	[7]	-	[66, 67, 74, 75]	-
Dureza superficial do esmalte	[3, 6, 36, 47, 55, 56, 60, 76-79]	[80]	[1, 65, 66, 81, 82]	[37, 60, 74, 83, 84]
Dureza superficial da dentina	[7, 55, 77]	-	[66, 81]	[74]
Morfologia e dureza sub-superficial do esmalte	[20, 57]	-	[66, 85]	-
Morfologia e dureza sub-superficial da dentina	-	-	[66, 85]	-
Conteúdo mineral do esmalte	[17, 47, 60, 78]	-	[1, 66, 86]	[60, 83]
Conteúdo mineral da dentina	[49]	-	[66]	-

continua

conclusão

Tabela 2.1- Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos do peróxido de carbamida e de hidrogênio sobre o esmalte e a dentina

Permeabilidade do esmalte	[43]	-	-	-
Permeabilidade da dentina	[87, 88]	-	-	-
Suscetibilidade a desgaste abrasivo/erosivo do esmalte	-	-	[89, 90]	[91]
Suscetibilidade a desgaste abrasivo/erosivo da dentina	-	-	-	[91]
Degradação de colágeno na dentina (radioimunoensaio)	[54]	-	-	-

[] Números dentro de parênteses indicam as referências encontradas na literatura

Os dados conflitantes observados na literatura podem ser atribuídos a diferenças existentes entre as metodologias usadas nos estudos *in vitro*. Dentre essas, pode-se destacar os diferentes meios de armazenagem dos espécimes nas pesquisas *in vitro*, como: água destilada, água deionizada ou saliva artificial, sendo que esta última possui várias formulações^[92], e o uso de diferentes produtos que contenham flúor ou qualquer outro agente remineralizante no decorrer da pesquisa.

A utilização de dentes provenientes de espécies diferentes também pode influenciar na divergência de resultados encontrados na literatura. Por exemplo, o esmalte bovino apresenta taxa de progressão de lesão três vezes mais rápida quando comparado ao esmalte humano^[93].

Outro fator que também pode influenciar na divergência de resultados observados na literatura é a diferença existente entre os estudos *in vitro* e *in situ*. Presume-se, nesse último, que ocorra remineralização do substrato exposto ao agente clareador, posto que na cavidade bucal fenômenos de des-re são processos dinâmicos e que ocorrem constantemente^[94].

2.1.2 Hipersensibilidade dental trans e pós tratamento clareador

Uma das maiores consequências provocadas pela desmineralização da estrutura dental clareada e muito observada pelos clínicos e pacientes é, sem dúvida, a hipersensibilidade dental, sendo este o maior efeito adverso ao tratamento clareador^[36].

É importante mencionar que a hipersensibilidade dental trans e pós tratamento clareador à base peróxido é um fenômeno multifatorial e que envolve alguns conceitos fundamentais: teoria hidrodinâmica de Brännström, que inclui a movimentação do fluido dentinário causado por estímulo osmótico; e penetração de subprodutos do peróxido durante o tratamento clareador por meio do esmalte e dentina até a polpa^[15].

O procedimento clareador também pode contribuir para a hipersensibilidade trans e pós tratamento via desidratação^[16], pois a glicerina é uma substância de natureza anidra, que tem potencial de desidratar a estrutura dental por provocar desequilíbrio osmótico^[95].

O processo de desmineralização provocado por alguns agentes clareadores, seja pela acidez do produto seja pela ação do carbopol (quelante), pode gerar aumento da permeabilidade da estrutura dental e, com isso, facilitar a penetração dos clareadores e seus subprodutos até o complexo dentino pulpar, o que pode provocar hipersensibilidade trans e pós tratamento clareador, resultado de reações pulpares inflamatórias transitórias^[96].

O carbopol é um polímero derivado do ácido poliacrílico de composição química $C_3H_4O_2$ que inibe completamente o crescimento dos cristais de hidroxiapatita por causa de sua alta capacidade de ligação com o cálcio. Agentes clareadores com carbopol causaram diminuição nos valores de microdureza do esmalte e dentina, sugerindo uma contínua desmineralização dessas estruturas, mesmo em pH neutro^[36]. Autores compararam os efeitos de dois agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10% com e sem carbopol sobre o esmalte dental. Foi detectada significativa diminuição na microdureza do esmalte superficial tratado com agente clareador com carbopol, em uma profundidade de até 25 μm ^[20].

O tratamento clareador também pode contribuir para a desobstrução de túbulos dentinários expostos ao meio bucal, encontrados em restaurações defeituosas, regiões com recessão gengival e áreas com lesões erosivas e, com isso, provocar hipersensibilidade dental explicada pela teoria hidrodinâmica de Brännström^[15], em que alterações no fluxo dos fluídos dentinários são responsáveis pela hipersensibilidade dental^[16].

Em um estudo laboratorial de microinfiltração, foi observado que o peróxido de carbamida a 10% afetou o selamento marginal de restaurações e aumentou a microinfiltração ao redor de restaurações de resina composta. Segundo os autores, este pode ser um mecanismo pelo qual agentes clareadores caseiros alcançam os túbulos dentinários. Isso talvez explique o porquê de alguns pacientes experimentarem mais fenômenos de hipersensibilidade do que outros^[97].

Um estudo clínico foi conduzido com o objetivo de determinar a incidência de hipersensibilidade dental durante e após o tratamento clareador caseiro. Cinquenta pacientes usaram um gel à base de peróxido de carbamida a 15% contendo 0,11% de flúor, sendo que os outros cinquenta pacientes usaram um gel placebo (Glicerina), diariamente, por quatro semanas. Os autores afirmam que, em aproximadamente metade dos pacientes que usaram o peróxido, ocorreu hipersensibilidade dental moderada, sendo que 4% dos pacientes apresentaram hipersensibilidade severa. Pacientes com recessão gengival mostram-se mais passíveis de terem hipersensibilidade durante o tratamento clareador caseiro^[95].

2.2 Métodos para analisar a estrutura dental clareada

2.2.1 Análise morfológica da estrutura dental clareada

As alterações topográficas que ocorrem na estrutura dental clareada têm sido amplamente avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

O MEV é usado rotineiramente nas pesquisas odontológicas para análise de materiais sólidos. Este equipamento é capaz de gerar imagens com resolução

máxima na ordem de micrometros, enquanto o MEV por emissão de campo (FEG), um equipamento mais moderno, pode fornecer imagens em escala nanométrica.

Em virtude dessa altíssima capacidade de resolução, o FEG torna-se um equipamento bastante indicado para a avaliação morfológica da estrutura dental clareada, pois permite a observação de alterações sutis e, com isso, torna-se possível detectar processos iniciais de dissolução dos tecidos^[22]. Contudo o FEG ainda é um equipamento pouco utilizado na Odontologia.

Trabalhos científicos, usando microscopia eletrônica de varredura, têm revelado diversas alterações na superfície do esmalte de dentes submetidos ao clareamento, como erosões, porosidades e depressões^[1, 98]. Para outros autores^[69, 99], não existe consenso quanto à presença de alterações relevantes na estrutura do esmalte após a aplicação de agentes clareadores de uso caseiro, como pode ser observado na tabela 2.2.

Tabela 2.2- Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos dos clareadores convencionais de uso caseiro à base de peróxido de carbamida ou de hidrogênio sobre a morfologia do esmalte, da dentina e da junção amelo cementária

Tipo de tecido	Alterações provocadas por PC 10-16%		Alterações provocadas por PH 5,3-9,5%	
	<i>Sim</i>	<i>Não</i>	<i>Sim</i>	<i>Não</i>
Esmalte	[3, 12, 20, 39, 48, 51, 52, 59, 62, 63, 68, 69, 76, 100, 101]	[2, 41, 67, 81, 102, 103]	[3, 76, 84]	[41, 82]
Dentina	[7]	[67, 81, 104]	[7]	-
Junção amelo-cementária	[12, 105]	-	-	-

[] Números dentro de parênteses indicam as referências encontradas na literatura; peróxido de carbamida (PC); peróxido de hidrogênio (PH)

Essa grande controvérsia em relação às alterações morfológicas que podem ser observadas nos dentes clareados pode ser atribuída ao fato de que a maioria dos estudos não leva em consideração as diferenças topográficas estruturais observadas na estrutura dental, utilizando pequenos aumentos^[50, 59].

Outro fator que pode contribuir para a divergência de resultados observados na literatura é que a maioria das pesquisas utiliza as imagens de microscopia apenas como um recurso para ilustrar resultados. No entanto, apesar de ser mais trabalhoso, o uso de repetições para a análise estrutural é extremamente efetivo, uma vez que permite a realização da análise estatística das imagens^[35]. Vale ressaltar que a utilização de mais de um dente torna-se importante nesse tipo de análise.

2.2.2 Análise de dureza superficial do esmalte e da dentina clareados

O ensaio de dureza é um outro tipo de análise que permite avaliar o impacto dos procedimentos clareadores na estrutura dental.

Para determinar alterações superficiais no esmalte dental, a técnica de microdureza tem sido muito utilizada^[38, 106-112]. Usando-se este teste, estágios iniciais de dissolução do esmalte, que são associados com a desmineralização e enfraquecimento da superfície, podem ser determinados^[109].

Na tabela 2.3 pode-se observar que não existe consenso na literatura a respeito das alterações de dureza provocadas pelos agentes clareadores, tanto em esmalte, quanto em dentina.

Tabela 2.3- Referências bibliográficas relacionadas com os efeitos dos clareadores convencionais de uso caseiro à base de peróxido de carbamida ou de hidrogênio sobre a dureza do esmalte e da dentina

Tipo de tecido	Alterações provocadas por PC 10-16%		Alterações provocadas por PH 5,3-9,5%	
	<i>Sim</i>	<i>Não</i>	<i>Sim</i>	<i>Não</i>
Esmalte	[3, 6, 36, 47, 55-57, 60, 62, 76-78, 80, 84, 104, 113]	[1, 37, 60, 65, 81, 83, 84]	[3, 80]	[37, 66, 74, 82]
Dentina	[7]	[81]	[82]	[66, 74]

[] Números dentro de parênteses indicam as referências encontradas na literatura; peróxido de carbamida (PC); peróxido de hidrogênio (PH)

As pesquisas que mostram redução estatisticamente significativa dos valores de dureza após a aplicação dos clareadores atribuem esse resultado à ação do peróxido na matriz orgânica do esmalte ou aos agentes ácidos e quelantes presentes nas fórmulas dos géis clareadores^[7, 9, 35, 80, 114].

Por exemplo, em um estudo de 2005, que analisou o efeito do PC a 10%, do carbopol e/ou glicerina sobre a dureza do esmalte e da dentina humanos, observou-se que os espécimes tratados com carbopol (quelante) e suas associações apresentaram tendência a menores valores de dureza, enquanto os tratados com glicerina foram afetados em menor grau^[36].

Em uma pesquisa *in situ*, foram avaliados os efeitos de diferentes sistemas clareadores e espessantes sobre a dureza do esmalte humano. Foram fixados dois espécimes nas faces vestibulares dos primeiros molares superiores de 45 voluntários. Esses voluntários foram divididos em cinco grupos: G1-gel de peróxido de carbamida a 10% com carbopol (Whiteness Perfect-FGM); G2-gel de carbopol a 2% (Poly Comercial); G3-pasta de peróxido de carbamida a 10% (Colgate Platinum Overnight-Colgate); G4-poloxamero (F&A) e G5-tiras impregnadas com peróxido de hidrogênio a 6,5% (Whitestrips-Crest). As avaliações de microdureza foram feitas em dois períodos: antes e logo após o tratamento. Os autores concluíram que todos os tratamentos causaram queda nos valores de dureza do esmalte^[115].

Em outro estudo *in situ*, pesquisadores estudaram os possíveis efeitos de três agentes clareadores à base de peróxido de carbamida a 10%, com diferentes pH,

em relação à dureza e alteração superficial do esmalte humano. Apesar de observarem alterações na superfície do esmalte clareado, por meio de microscópio eletrônico de varredura, não foram constatadas alterações significativas na dureza do esmalte tratado. Para os autores, o clareamento com peróxido de carbamida a 10% altera o processo de remineralização do esmalte ao ser exposto à saliva^[62].

Recentemente, em uma outra pesquisa *in situ*, autores estudaram a influência de dois agentes clareadores de uso caseiro sobre a dureza do esmalte humano. Os valores de dureza Knoop da superfície dos espécimes foram determinados inicialmente. Em seguida, os espécimes foram colocados em dispositivos intraorais e usados por 10 voluntários (doadores dos dentes) durante 21 dias. Os espécimes foram divididos em três grupos: G1- controle, G2- tratado com peróxido de carbamida a 10% (NiteWhite, Phillips) e G3- tratado com peróxido de hidrogênio a 7,5% (DayWhite, Phillips). Novos valores de dureza foram determinados após o tratamento. Por análise estatística, os pesquisadores constataram que os agentes clareadores usados nesse estudo não provocaram alterações na dureza do esmalte humano^[37].

2.2.3 Análise do conteúdo mineral da estrutura dental clareada

Pode-se encontrar na literatura diversas metodologias para a análise das alterações minerais em dentes clareadores, dentre elas: espectroscopia de raios-x por dispersão de energia (EDS), espectroscopia eletrônica para análise química (ESCA), espectroscopia de absorção com infravermelho, espectroscopia de infravermelho de Fourier, espectrofotometria de emissão atômica por indução de plasma de argônio acoplado. Essas metodologias são muito utilizadas nos estudos de química analítica e, dependendo do equipamento utilizado, permitem ao pesquisador identificar elementos químicos em amostras gasosas, sólidas e líquidas.

Por meio de análise química feita através de ESCA, pesquisadores detectaram a perda dos elementos químicos fósforo e cálcio na superfície de dentes clareados com peróxido de carbamida durante três semanas, seguindo aplicações diárias de quatro horas^[48].

Em outro estudo, foi utilizado EDS para analisar o conteúdo de fósforo e cálcio de dentes antes e depois do clareamento com os produtos: Brite Smile – peróxido de hidrogênio a 10%, Nu-Smile – peróxido de carbamida a 15% e Rembrandt Lighten – peróxido de carbamida a 10%. Os autores observaram que todos os agentes clareadores provocaram diminuição nos valores de cálcio e fósforo do esmalte dental^[116].

A perda de cálcio na superfície do esmalte clareado com produtos à base de peróxido de carbamida a 10%, 15% e 16% foi constatada em outro estudo. As mensurações foram realizadas por meio de espectroscopia de absorção com infravermelho, espectroscopia de infravermelho de Fourier e EDS^[47].

Em uma outra pesquisa *in vitro* que também utilizou EDS, foram medidos níveis de oxigênio, cálcio e fósforo com intuito de avaliar a ação do agente clareador sobre a estrutura do esmalte. Para tal, foram utilizados 10 incisivos inferiores hígidos, divididos em 2 grupos: grupo controle (armazenado em saliva artificial) e grupo experimental (tratado com peróxido de carbamida 10%-Whiteness, FGM). Os autores concluíram que o peróxido de carbamida alterou o nível de fósforo na estrutura do esmalte, enquanto os níveis de cálcio e oxigênio não sofreram variações significativas comparados ao grupo controle^[117].

Mais recentemente, alguns métodos baseados na fluorescência do substrato têm sido utilizados com a intenção de mensurar as alterações minerais em estudos clínicos^[94]. Dentre esses métodos, destaca-se a quantificação mineral por fluorescência do substrato dental, o QLFTM. Como vantagens dessa metodologia, pode-se destacar a especificidade local, rapidez de mensuração, além de ser um método não destrutivo e não invasivo^[94, 118].

Em 2009, foi desenvolvido um estudo *in situ* com objetivo de monitorar o conteúdo mineral do esmalte dental humano tratado de acordo com os grupos: G1-PH a 35% (Pola Office, SDI); G2 – PH a 7,5% (Pola Day, SDI); G3 – PH a 7,5% (Day White ACP, Discus Dental); G4 – ácido fosfórico a 35%. O período do estudo compreendeu 21 dias entre tratamento e monitoramento que foi realizado com auxílio do equipamento QLFTM System. Constatou-se que todos os agentes clareadores analisados ocasionaram diferentes níveis de desmineralização no esmalte humano, menos o agente clareador com ACP na composição. Este último foi capaz de reduzir o processo de desmineralização durante o período de

tratamento clareador e foi o único capaz de remineralizar completamente os espécimes após 21 dias de monitoramento^[94, 118].

2.2.4 Outros tipos de análise

Outros testes também são utilizados para analisar os efeitos dos clareadores sobre a estrutura dental, destacando-se: microinfiltração, microcissalhamento e radioimunoensaio.

Em um estudo laboratorial de microinfiltração, foi observado que o peróxido de carbamida a 10% afetou o selamento marginal de restaurações e aumentou a microinfiltração ao redor de restaurações de resina composta. Segundo os autores, este pode ser um mecanismo pelo qual agentes clareadores caseiros alcançam os túbulos dentinários^[97]. Recentemente, foi observado que há uma direta correlação entre a presença de agentes oxidantes e o potencial de penetração dos agentes clareadores na câmara pulpar. Segundo os autores desta pesquisa, o perborato de sódio misturado com água destilada tem menor potencial oxidativo do que um gel de peróxido de hidrogênio a 35% e, portanto, é menos agressivo^[119].

Outra metodologia usada é o teste de microcissalhamento. Em um estudo *in vitro*^[120], que comparou o efeito do peróxido de carbamida a 16% com um grupo controle, foi possível observar que o grupo tratado com o agente clareador apresentou resistência de união semelhante ao grupo controle. Os autores concluíram que a difusão do agente clareador aplicado sobre o esmalte dental não é capaz de afetar a resistência de união da dentina subjacente. Em uma outra pesquisa *in situ*^[40], também não foi observada diferença significativa da resistência de união do esmalte e da dentina tratados com peróxido de carbamida a 16%. Desta forma, os autores sugerem que as restaurações adesivas podem ser imediatamente confeccionadas após o tratamento clareador descrito acima.

Através de radioimunoensaio, pode-se mensurar o telopeptídeo carboxiterminal (ICTP) do colágeno tipo I e, com isso, permite-se avaliar os efeitos dos clareadores sobre a degradação de colágeno na dentina. Através do ensaio ICTP, uma pesquisa recente pôde avaliar espécimes de dentina humana clareados.

Os resultados mostraram que os agentes clareadores aumentaram a degradação de colágeno na dentina e esse efeito não foi completamente revertido após quatro semanas. Vinte e quatro horas após finalizados os tratamentos, observou-se que o agente clareador de uso caseiro (Opalescence PF, Ultradent - peróxido de carbamida a 10%) apresentou a mais alta taxa de indução de degradação de colágeno se comparada ao tratamento clareador de consultório (Opalescence Boost PF Ultradent - peróxido de hidrogênio a 38%). Segundo os autores, teorias sugerem que a aplicação de agentes clareadores é capaz de provocar desnaturação de proteínas dentinárias pela ação de agentes oxidantes. Possivelmente, os peróxidos também sejam capazes de causar modificação química nos tecidos mineralizados pela alteração da proporção entre componentes orgânicos e inorgânicos presentes na estrutura dental^[54].

2.3 Substâncias usadas para minimizar os efeitos dos clareadores sobre a estrutura dental

Com todas as alterações que os agentes clareadores podem provocar na estrutura dental, existem alguns produtos que visam minimizar ou até mesmo evitar os efeitos adversos decorrentes do clareamento. Como a hipersensibilidade dental trans e pós-operatória é um efeito adverso muito relatado e incomoda a maioria dos pacientes, sua prevenção e tratamento ainda são um desafio para o cirurgião-dentista.

O clareamento de dentes vitais tem sido bastante associado à hipersensibilidade. Pesquisas clínicas mostram que 15% a 78% dos pacientes que tiveram seus dentes clareados relataram hipersensibilidade trans e pós tratamento clareador^[121-123].

Atualmente existem duas opções para o tratamento da hipersensibilidade dental: a direta inibição da ativação neural pela ação de soluções de potássio e a oclusão de túbulos dentinários.

Vários agentes dessensibilizantes têm sido empregados para tratar a hipersensibilidade dental trans e pós-operatória. O nitrato de potássio a 5% é muito

utilizado para esse fim^[124]. Os íons potássio têm, como característica, despolarizar a membrana da célula nervosa, causando efeito dessensibilizante pela inibição da ativação neural e impedimento da propagação do estímulo doloroso^[125]. É necessária, porém, a penetração de um número significativo de íons potássio nos túbulos dentinários para ocorrer a inibição do estímulo nervoso^[126].

Alguns pesquisadores contestam a inibição neural pelo fato de que, em alguns pacientes, a espessura de dentina pode exceder 2-3 mm, o que seria muito difícil para os agentes ativos difundirem-se até a camada sub-odontoblástica, alterando a atividade das fibras nervosas. Os autores afirmam que o tratamento da hipersensibilidade, baseado na oclusão tubular, seria o mais correto^[127].

De acordo com a literatura^[126, 127], o método mais efetivo para diminuir a hipersensibilidade é pelo selamento e obliteração dos túbulos dentinários, com o objetivo de prevenir o movimento dos flúidos dentinários e com isso a dor. O flúor é um agente dessensibilizante muito utilizado para esta finalidade. Diferentemente do nitrato de potássio, ele atua como obliterador de túbulos dentinários por causa de sua união com íons cálcio, resultando em fluoretos de cálcio que, por sua vez, reduzem o diâmetro dos túbulos. Entretanto o tamanho do cristal formado é pequeno e menos efetivo do que os cristais formados por outros compostos. Além disso, os cristais de flúor são solubilizados com rapidez, especialmente os de fluoreto de sódio^[126]. Para selar efetivamente túbulos dentinários com flúor, é necessário um ambiente alcalino, oferta de cálcio e de ânions como fosfato ou carbonato. Devido a isso, a incorporação de fluoreto é provavelmente interrompida por mudanças de pH que ocorrem frequentemente na boca^[128].

Frente a essa problemática, têm-se desenvolvido produtos odontológicos com substâncias bioativas incorporadas à formulação. A intenção é de fornecer cálcio e fosfato à estrutura dental, além do fluoreto, de tal forma a promover a obliteração dos túbulos dentinários e diminuir a hipersensibilidade dental. No entanto existem poucos dados na literatura a respeito da incorporação dessas substâncias aos agentes clareadores^[9, 13, 14, 35, 129].

2.3.1 Incorporação de materiais bioativos ao tratamento clareador

A incorporação de materiais bioativos, como: ACP (fosfato de cálcio amorfo)^[26], CPP-ACP (caseína fosfopeptídica e fosfato de cálcio amorfo)^[27], nano hidroxiapatita^[28] e bio vitrocerâmicas^[9] ao tratamento clareador tem como objetivo minimizar ou até mesmo evitar a perda de minerais, o surgimento de porosidades e erosões na estrutura dental clareada^[7, 13, 14, 35]. Visa ainda contribuir para a redução de hipersensibilidade trans e pós-operatória e melhorar a estabilidade de cor dos dentes clareados, por diminuir a precipitação de proteínas superficiais, limitando a penetração de moléculas cromóforas (pigmentos) no esmalte dental^[13].

Como no presente estudo os materiais bioativos analisados são à base de ACP ou bio vitrocerâmica, somente esses dois materiais serão melhor abordados no texto.

Fosfato de cálcio amorfo ou “amorphous calcium phosphate” (ACP)

A American Dental Association Foundation (ADA), órgão de grande representação nos USA, desenvolveu uma substância remineralizadora à base de fosfato e cálcio. Esse composto, conhecido genericamente como ACP (“amorphous calcium phosphate”), tem como função remineralizar a estrutura dental e reverter lesões de cárie incipiente. Segundo a ADA, esse produto também é capaz de diminuir a sensibilidade ao frio, ao calor e à estimulação tátil^[130].

Para que sua aplicação seja viável sobre a estrutura dental, desenvolveu-se um método que consiste da mistura de duas soluções estáveis: uma contendo alta concentração de cálcio e outra com alta concentração de fosfato e carbonato. Quando essas substâncias são combinadas e aplicadas na superfície dental, o pH da solução se eleva rapidamente devido à evaporação do dióxido de carbono e, então, os íons cálcio e fosfato precipitam-se como ACPs, convertendo-se posteriormente em apatita mineral, similar à encontrada naturalmente nos dentes. Os cristais de ACP são capazes de depositarem-se em toda a superfície dental, quer

em esmalte, quer em dentina exposta e obliteram ainda os túbulos dentinários abertos em poucas aplicações^[29, 131].

Além da oferta de cálcio e fosfato, é importante que haja disponibilidade de flúor no ambiente oral, para que possa haver a conversão da hidroxiapatita em fluorapatita. O flúor melhora as propriedades físico-químicas da estrutura dental, de tal forma que a fluorapatita é a menos solúvel das apatitas^[132-134]. Daí a importância da disponibilização de flúor na água, dentifrícios, colutórios e alimentos^[135]. A resistência dos dentes à dissolução dependerá da proporção das diferentes apatitas, ou seja, quanto mais fluorapatita houver, maior será a resistência dos dentes à dissolução em meio ácido^[134].

A partir do método descrito acima, a indústria odontológica adicionou ACP a diferentes materiais, como é o caso dos géis clareadores.

Com intuito de pesquisar sobre os possíveis benefícios que um gel clareador com ACP poderia trazer, dois estudos clínicos^[13, 14] foram realizados comparando os efeitos de dois géis clareadores caseiros à base de peróxido de carbamida a 16%. A única diferença entre os géis foi a adição de ACP na formulação de um deles. Em ambos os estudos, foi observado que os pacientes tratados com o gel clareador que contém ACP apresentaram menor hipersensibilidade trans e pós tratamento clareador quando comparados aos pacientes tratados com o gel sem ACP. Os autores acreditam que o ACP rapidamente oblitera os túbulos dentinários expostos e abertos, pela precipitação de cristais de fosfato de cálcio na superfície e dentro dos túbulos. Estes cristais também seriam capazes de preencher defeitos superficiais microscópicos.

Em outra pesquisa *in vitro*, foi investigada, por meio de ensaio de microdureza e análise morfológica, a influência de géis clareadores de uso caseiro com ACP na composição sobre o esmalte e a dentina humanos. Os resultados indicaram que os géis que contém ACP preveniram a desmineralização do esmalte e da dentina. No entanto, agentes clareadores convencionais (com nitrato de potássio e flúor na formulação) causaram diminuição de dureza e alteração morfológica no esmalte e na dentina clareados^[35].

Recentemente, um estudo analisou o efeito da combinação de hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio a 30% sobre a microdureza e morfologia do esmalte dental humano. O uso apenas de peróxido de hidrogênio causou redução estatisticamente significativa dos valores de dureza, bem como alterações morfológicas. A

combinação de hidroxiapatita e peróxido de hidrogênio fez com que a redução dos valores de dureza não fosse tão acentuada e a análise morfológica não mostrou alterações no esmalte superficial. O uso isolado de solução de hidroxiapatita não causou alterações nos valores de dureza. Os pesquisadores concluíram que a hidroxiapatita pode ser um biomaterial com grande potencial para ser utilizado no auxílio do clareamento dental^[136].

Existem atualmente alguns trabalhos comprovando a eficácia clínica da adição de fosfato e cálcio a géis clareadores em relação à cor obtida, durabilidade do efeito clareador (estabilidade da cor), hipersensibilidade trans e pós-operatória e toxicidade^[13, 14, 29]. Em 2009, desenvolveu-se um estudo *in vitro* para avaliar os efeitos da combinação de materiais bioativos ao tratamento clareador, por meio de análise ultra morfológica e teste de microdureza^[8]. Os resultados indicaram que os géis clareadores com ACP na composição não causaram desmineralização em esmalte e dentina. Por sua vez, os géis clareadores convencionais (com nitrato de potássio e flúor na composição) promoveram diminuição de dureza e alterações morfológicas, tanto em esmalte, quanto em dentina. Não há na literatura qualquer estudo *in situ* que mostre a influência do uso de materiais bioativos sobre a ultraestrutura, dureza e conteúdo mineral de dentes clareados, como foi proposto no presente estudo.

Bio vitrocerâmicas

Entre 1969 e 1971, Larry Hench, pesquisador da Universidade da Flórida (EUA), desenvolveu os biovidros^[137]. Segundo Hench, quando esses materiais são colocados em contato com o tecido ósseo e na presença de fluidos do corpo humano possibilitam a formação na sua superfície de uma camada de hidroxicarbonatoapatita, que possui composição química e estrutural equivalente à fase mineral encontrada na estrutura dental^[138].

Mais especificamente, quando um biovidro entra em contato com os fluidos corpóreos ocorre lixiviação de cátions do fluido (estágio I). Com isso ocorre aumento do pH local e ruptura das ligações Si-O-Si, liberando-se silício na solução (estágio

II). Se o pH local for menor que 9,5, ocorre condensação do silício e a sílica repolimeriza-se na superfície do vidro, formando uma camada de sílica gel (estágio III). A estrutura da sílica gel permite que a troca iônica entre o vidro e a solução continue ocorrendo. Íons cálcio e fósforo difundem-se a partir do vidro pela camada de sílica gel que, somados aos íons cálcio e aos fosfatos presentes na solução, formam uma camada de fosfato de cálcio amorfo sobre a superfície (estágio IV). Com o aumento da espessura das camadas de sílica gel e fosfato de cálcio amorfo, esta última começa a incorporar íons hidroxila, carbonato e flúor presentes no meio, iniciando a cristalização em forma de apatita^[126, 139].

No entanto o baixo desempenho mecânico e a fratura concoidal (cortante) desses materiais têm restringido sua utilização. Com intuito de solucionar os problemas apresentados acima, um grupo de pesquisadores brasileiros, desenvolveu uma nova tecnologia baseada na cristalização dos biovidros, em parceria do Laboratório de Materiais Vítreos (LaMav) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), com a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (USP), *campus* Ribeirão Preto^[140].

A partir da cristalização controlada desses biovidros foi possível obter-se vitrocerâmicas, com melhores propriedades mecânicas e ausência de arestas cortantes. Entretanto a introdução de cristalinidade no material reduziria seu índice de bioatividade e, com isso, surgia um novo desafio para o grupo de pesquisadores brasileiros^[140]. Em 2003, esse mesmo grupo conseguiu desenvolver e patentear uma vitrocerâmica particulada e altamente bioativa, denominada Biosilicato®^[141].

O Biosilicato® é composto basicamente por sódio, potássio, fósforo, cálcio, oxigênio e sílica. É uma vitrocerâmica finamente particulada e com elevado grau de cristalinidade (>99,5%), de composição química: $P_2O_5-Na_2O-CaO-SiO_2$, com distribuição de partículas entre 0,1 a 10 μm ^[9].

O desenvolvimento desse material bioativo com características particularmente projetadas possibilitou sua utilização na Odontologia. Por meio de um estudo *in vitro*, com microscopia eletrônica de varredura, que comparou os efeitos do Biosilicato® a outros agentes dessensibilizantes dentinários já existentes no mercado, observou-se que a aplicação do Biosilicato® misturado com água destilada apresentou melhor desempenho (oclusão de túbulos dentinários) se

comparado aos outros produtos analisados, promovendo a formação de uma camada uniforme de tecido mineralizado sobre a estrutura dentinária^[126].

A associação do uso de uma bio vitrocerâmica ou do ACP ao tratamento clareador foi analisado em uma outra pesquisa *in vitro* que investigou a influência desses biomateriais na morfologia superficial de espécimes de dentina bovina clareada. Os autores concluíram que o uso do ACP ou da bio vitrocerâmica (Biosilicato®), em conjunto com o tratamento clareador, foi capaz de promover a obliteração de túbulos dentinários expostos e abertos^[9]. Não existe, até o presente momento, nenhum outro estudo publicado que trate da mistura de bio vitrocerâmicas ao uso de clareadores dentais.

Em 2007 foi publicada a primeira pesquisa *in vivo* com intuito de analisar os efeitos do Biosilicato® como agente dessensibilizante. Os autores avaliaram comparativamente a eficácia de diferentes produtos dessensibilizantes dentinários. Os voluntários fizeram uso de: dentifrício dessensibilizante Sensodyne®; gel com Biosilicato® a 1%; Biosilicato® misturado à água destilada 10% e do produto Sensi Kill®. Foram observados clinicamente o tempo de ação de cada produto (em semanas) e, posteriormente, a duração do efeito do tratamento (mensalmente, durante 6 meses). Pôde-se constatar que todos os produtos foram capazes de reduzir significativamente a hipersensibilidade dentinária dos voluntários. Entretanto o tratamento com Biosilicato® misturado com água destilada e aplicado 1 vez por semana, durante 5 minutos, apresentou maior redução da hipersensibilidade em menor tempo, quando comparado aos outros produtos. Dessa forma, a avaliação mostrou que o Biosilicato® é eficiente no tratamento da hipersensibilidade dentinária. Para os pesquisadores o efeito dessensibilizante desse material bioativo deve-se à formação de uma camada mineral sobre a superfície dental^[126].

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo *in situ* é avaliar, por meio do teste de microdureza, análise ultraestrutural e quantificação mineral por fluorescência do substrato dental, a influência de materiais bioativos sobre a superfície de esmalte e dentina de dentes humanos clareados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo *in situ* utilizou espécimes de esmalte e dentina clareados e tratados com diferentes materiais bioativos, num período de 14 dias consecutivos. Foram realizadas, também, avaliações dos espécimes antes de serem tratados (medidas “baseline” para ensaio de dureza e análise por QLF™) e, no caso da análise ultraestrutural, foi feita avaliação dos espécimes controle (não clareados).

Antes da aplicação dos géis clareadores sobre os espécimes, o grau de acidez dos mesmos foi medido com um pHmetro digital (DIGIMED, modelo DM-20), com margem de erro relativo de 0,05%. O equipamento foi calibrado com 2 soluções-tampão representadas por pH=7 e pH=4. Em seguida o gel foi colocado dentro de um recipiente de vidro para leitura no pHmetro.

4.1 Grupos experimentais

A tabela 4.1 apresenta os diferentes produtos que foram utilizados no estudo:

Tabela 4.1- Descrição dos grupos experimentais, marca comercial e fabricante, tipo de tratamento realizado, composição básica dos produtos, período e número total de aplicações dos materiais

Grupo experimental	Marca comercial/ Fabricante	Tratamento Remine- ralizador	Produto Reminerali- zante/Fabri- cante	Composição Básica	Período de aplicação diário	Número total de aplicações
Tratamento Clareador Convencional (Opal)	Opalescence PF/ Ultradent, USA	Não	Não	Peróxido de carbamida 15% + Nitrato de potássio + Flúor	*8 horas	14 dias
Tratamento Clareador com agente Bioativo (NW ACP)	Nite White ACP/ Philips, USA	Sim	ACP (Já incorporado no agente clareador)	Peróxido de carbamida 16% + Nitrato de potássio + ACP	*8 horas	14 dias
Biosilicato® foi incorporado ao gel Clareador Convencional no momento da aplicação do tratamento clareador na concentração de 1% (Opal + Bio)	Opalescence PF/ Ultradent, USA	Sim	Biosilicato®/ Vitrovita, Brasil	Peróxido de carbamida 15% + Vidro- cerâmico cristalizado de $P_2O_5-Na_2O-CaO-SiO_2$	8 horas	14 dias
Tratamento Clareador Convencional com posterior aplicação de Biosilicato® em água destilada na concentração de 10% (Opal → Bio)	Opalescence PF/ Ultradent, USA	Sim	Biosilicato®/ Vitrovita, Brasil	Peróxido de carbamida 15% + Vidro- cerâmico cristalizado de $P_2O_5-Na_2O-CaO-SiO_2$	*8 horas de tratamento clareador + **5 minutos de tratamento com substância bioativa 1x por semana	14 dias para o tratamento clareador; 2 dias para o tratamento com Biosilicato®
Tratamento Clareador Convencional com posterior aplicação de Relief ACP (Opal → Rel ACP)	Opalescence PF/ Ultradent, USA	Sim	Relief ACP/Philips, USA	Peróxido de carbamida 15% + Nitrato de potássio + Flúor + ACP	*8 horas de tratamento clareador + 30 minutos de tratamento com substância bioativa	14 dias

*Instrução do fabricante

**Tirapelli^[126]

4.2 Seleção dos voluntários

Este protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP (Anexo A).

Foram selecionados dez voluntários, de acordo com os critérios de inclusão e de exclusão apresentados na tabela 4.2. Os indivíduos selecionados foram informados sobre todos os procedimentos da pesquisa e, ao concordarem em participar do estudo, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo B).

Tabela 4.2- Critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos da pesquisa

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
- Ter disponibilidade para cumprir com a programação estabelecida durante o estudo	- Fazer uso de medicamentos que interfiram na secreção salivar
- Fluxo salivar estimulado > 0,7 mL/minuto	- Estar em tratamento de radioterapia ou quimioterapia
- Não ter lesão de cárie ativa, e/ou doença periodontal	- Estar grávida ou em período de lactação
- Inexistência de lesões não-cariosas e superfícies radiculares expostas	- Usar prótese removível, aparelho ortodôntico ou placas oclusais
- Idade entre 20 e 30 anos	- Ter doenças sistêmicas ou distúrbios digestivos

4.3 Seleção dos dentes e preparo dos espécimes

Foram selecionados 20 molares obtidos do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da USP. Os dentes estavam livres de cárie, trincas e defeitos estruturais, observados através de lupa (SZ 40, Olympus®, Japão) com 30x de aumento. Em seguida foram limpos para remover os contaminantes e armazenados em timol 0,1% a 4°C^[142].

4.3.1 Preparo dos espécimes para ensaio de dureza (KHN) e análise ultraestrutural (FEG-SEM)

Para o ensaio de dureza e análise ultraestrutural, foram selecionados 10 dentes (figura 4.1: A), observados através de lupa (figura 4.1: B). Cada elemento dental foi seccionado 3 mm acima da junção cimento-esmalte (figura 4.1: C). Em seguida foram obtidos seis espécimes da porção cervical de cada dente, contendo esmalte e dentina (figura 4.1: D).

Uma vez que a análise ultraestrutural é um tipo de ensaio destrutivo da amostra, não é possível fazer imagens “baseline” dos espécimes. Desta forma, foi necessário obter-se um espécime adicional para servir como controle (não tratado). Por essa razão, obtiveram-se seis espécimes ao invés de cinco.

Após o corte dos dentes, os espécimes foram embutidos em resina quimicamente ativada, lixados e polidos através de uma politriz (Knuth Rotor, Struers, Dinamarca), com uma sequência de discos de lixa de óxido de alumínio nas granulações: 600, 800, 1.200, 1.500, 2.500 e 4.000, para criar uma superfície lisa e polida. O polimento final foi feito com suspensão de alumina (1 μm). Para remoção dos resíduos provenientes do processo de polimento, os espécimes foram imersos em ultrassom contendo água deionizada, por 20 minutos. Em seguida foram armazenados em água deionizada a 37°C e distribuídos aleatoriamente entre os cinco grupos experimentais e um controle.

Com intuito de permitir comparações morfológicas e mecânicas nas diferentes condições experimentais, foi adotada medida de padronização, em que os espécimes experimentais e controle foram obtidos de um mesmo dente^[8]. Esses espécimes foram seccionados na mesma altura, lixados e polidos simultaneamente. Adotada essa medida, pôde-se garantir a comparação direta entre os diferentes tratamentos (clareador/remineralizador), já que existe variação morfológica e mecânica de acordo com a direção dos prismas de esmalte e densidade de túbulos dentinários encontrados em cada região dental^[128, 143].

Figura 4.1- Esquema ilustrativo do delineamento experimental

4.3.2 Preparo dos espécimes para análise por quantificação do conteúdo mineral pelo método de fluorescência do substrato dental (QLF™)

Para a análise por QLF™, foram selecionados mais 10 dentes (figura 4.1: F), observados através de lupa (figura 4.1: G). Cada elemento dental foi seccionado na junção cimento-esmalte (figura 4.1: H) com um disco de diamante em baixa velocidade, sob constante refrigeração (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA). Em seguida, cinco fragmentos de esmalte superficial com dentina subjacente (5 x 5 x 3 mm) foram retirados da porção coronária de cada dente (figura 4.1: I).

Metade de cada espécime foi protegida com cera utilidade e a outra metade (desprotegida) recebeu duas coberturas com verniz ácido resistente de secagem rápida (Colorama Maybelline, São Paulo-Brasil), como pode ser observado na figura 4.1: I. Ao ser removida a cera utilidade, cada espécime teve uma região que entrou em contato com os diversos tratamentos aplicados e outra região protegida com verniz que serviu como área de referência (não tratada).

4.4 Confeção dos dispositivos palatinos intraorais

Cada voluntário selecionado teve as arcadas superior e inferior moldadas com alginato. Os moldes foram preenchidos com gesso-pedra para obtenção do modelo de trabalho.

A partir do modelo do arco superior, dispositivos palatinos intraorais em resina acrílica autopolimerizável foram confeccionados. Cada dispositivo continha 11 espécimes, sendo 5 de esmalte para análise por QLF™ e 6 espécimes de esmalte e dentina para o ensaio de dureza e análise ultraestrutural (figura 4.2). Os espécimes foram embutidos em uma base retangular de resina acrílica e fixados com cera pegajosa dentro de um nicho previamente confeccionado na base do palato do dispositivo. Isto permitiu com que os espécimes fossem removidos dos dispositivos palatinos intraorais para a realização dos diferentes ensaios.

Nesta fase, o dispositivo palatino intraoral e todos os espécimes que o

compõem foram esterilizados em autoclave (modelo 12L, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, BR) a 121°C em 15 lb/pol² por 30 minutos^[144].

Figura 4.2- Dispositivo intraoral com os espécimes fixados no palato. Cinco espécimes para a análise por QLF™ e seis para ensaio de dureza (KHN) e análise ultraestrutural (FEG-SEM)

4.5 Fase intraoral

Este estudo foi constituído de uma fase intraoral de 14 dias consecutivos. Dez voluntários (figura 4.1: L), selecionados de acordo com os critérios apresentados na tabela 4.2 utilizaram dispositivos palatinos intraorais durante 24 horas por dia, exceto durante as refeições, higiene bucal e realização dos tratamentos, que foi extraoral.

Uma semana antes do uso dos dispositivos (período de *lead in*) e durante toda a pesquisa, os voluntários foram instruídos a utilizar escova dental macia (Sensodyne Esmalte Care) e dentifrício (Colgate Max Fresh Cool Mint) fornecidos pelos pesquisadores, sem fazer uso de qualquer produto ou enxaguatório bucal fluoretado. O dispositivo intraoral era escovado 3 vezes por dia, de manhã (ao acordar), no momento antes da aplicação dos tratamentos e à noite (antes de dormir).

Figura 4.3- Kit de higiene oral fornecido para cada um dos voluntários da pesquisa (1); dispositivo palatino intraoral (2); estojo para armazenar o dispositivo (3)

4.5.1 Aplicação dos tratamentos

Os diferentes produtos foram aplicados (após escovação do dispositivo) por um dos responsáveis pela pesquisa, de forma extraoral. Os agentes clareadores eram aplicados com uma camada de 2mm de espessura, seguido da colocação de 40 μ L de saliva (pertencente ao próprio sujeito da pesquisa) acima do gel. A quantidade de saliva era medida com pipeta automática (Gilson, P200). Esse conjunto gel+saliva humana era colocado em contato com os espécimes durante 8 horas consecutivas. Decorrido esse tempo, os clareadores eram removidos com jato ar/água e o dispositivo palatino intraoral era lavado em água corrente.

Para os grupos em que era proposto tratamento remineralizador após o tratamento clareador, os espécimes ficavam em contato com os agentes remineralizantes pelo período específico para cada grupo (tabela 4.1). Acima do agente remineralizante, eram colocados 40 μ L de saliva do próprio voluntário. Em seguida, os produtos eram removidos com jato ar/água e o dispositivo lavado e recolocado na boca do voluntário até o próximo ciclo clareador/remineralizador.

Durante a aplicação dos tratamentos (extraoral), cada dispositivo palatino intraoral era mantido em ambiente úmido a 37°C.

Figura 4.4- Recipiente para manter o ambiente úmido

No dia seguinte, os espécimes eram novamente clareados/remineralizados, iniciando-se assim, um novo ciclo. Foram realizados 14 ciclos, durante 14 dias. Para o grupo Opal → Bio, o produto remineralizante foi aplicado apenas 1 vez por semana, durante 5 minutos^[126] (tabela 4.1).

Ao final da fase intraoral, os espécimes foram removidos dos dispositivos para que a análise por QLF™, ultraestrutural e ensaio de dureza fossem realizados.

4.6 Ensaio de dureza

Após finalização da fase intraoral, os espécimes de esmalte e dentina foram imediatamente submetidos ao teste de microdureza Knoop (figura 4.1: M), desenvolvido pela National Bureau of Standards (NBS-USA)^[145].

O equipamento utilizado foi um microdurômetro, modelo HMV-2, da marca Shimadzu, com carga estática de 50 gramas aplicada por 15 segundos para os espécimes de esmalte e 25 gramas por 15 segundos para a dentina^[145].

Em cada espécime, foram realizadas 6 indentações em esmalte e 6 em dentina, sendo 3 iniciais (antes do tratamento clareador/remineralizador) e 3 finais (após 24 horas de finalizado o tratamento), localizadas a 500 µm a esquerda das marcas iniciais. As indentações tiveram um espaço de 200 µm entre elas.

4.7 Análise ultraestrutural

Imediatamente após finalização dos testes de dureza, todos os espécimes foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% e cacodilato de sódio 0,1M tamponada em pH 7,4 por 12 horas e, em seguida, colocados em solução de cacodilato de sódio 0,2 M tamponado em pH 7,4 por um total de 60 minutos (três banhos de 20 minutos cada). Após este período, os espécimes foram desidratados em escala de concentração ascendente de etanol. A secagem química final foi realizada por meio de imersão em HMDS (Hexamethyldisilazane, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, EUA) por 10 minutos e para evaporação desta substância, os espécimes ficaram em temperatura ambiente dentro de uma capela de exaustão por 2 horas. Posteriormente, os espécimes foram recobertos com uma camada de platina de 15nm através de um metalizador (modelo MED-020, Bal-tec, UK).

Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FEG-SEM) modelo JEOL JSM-7600F, equipado com janela de Be e analisador multicanal Q500 da IXRF, utilizando software próprio (figura 4.1: N).

Neste estudo, foram analisados, por FEG-SEM, o esmalte, a dentina tubular e a dentina intertubular de cada espécime. Para tal, foi elaborado um álbum com imagens de dentina tubular em 5.000x e 20.000x aumento, dentina intertubular e esmalte em 100.000x de aumento.

As imagens com aumento de 5.000x serviram para a observação do padrão encontrado na dentina tubular, permitindo que uma maior área do espécime fosse analisada.

As alterações observadas nas imagens de microscopia podem ser consideradas como uma variável qualitativa, e seus estágios podem ser classificados em escala ordinal, representada por escores.

O álbum com as imagens de microscopia foi analisado por três avaliadores independentes e previamente calibrados.

Primeiramente, as tabelas utilizadas para classificação das imagens foram apresentadas para os avaliadores; em seguida, cada um deles atribuiu escores (de acordo com as tabelas) para três imagens de esmalte, três de dentina tubular e mais três de dentina intertubular. Os dados foram submetidos ao teste W de Kendall para

análise de concordância entre os avaliadores, aceitando-se uma concordância maior que 85%.

Após estarem calibrados, cada avaliador atribuiu um escore para cada imagem observada no álbum descrito acima, classificando-a de acordo com os parâmetros pré-estabelecidos para o esmalte (tabela 4.3), dentina tubular e intertubular (tabela 4.4). Após a classificação das imagens, foi realizada análise estatística por ANOVA de 1 fator com dados vinculados.

Tabela 4.3- Grau das alterações no esmalte

Grau das alterações	Esmalte
0	Superfície uniforme sem possibilidade de observação de cristais de hidroxiapatita
1	Superfície uniforme com observação de cristais compactados
2	Presença de fendas sem aumento dos espaços intercristalinos
3	Aumento dos espaços intercristalinos e presença de fendas

Tabela 4.4- Grau das alterações na dentina tubular e intertubular

Grau das alterações	Dentina Tubular	Dentina Intertubular
0	Túbulos dentinários totalmente obstruídos	Área lisa
1	75% dos túbulos dentinários obstruídos	Área parcialmente lisa
2	50% dos túbulos dentinários obstruídos	Superfície discretamente porosa
3	25% dos túbulos dentinários obstruídos	Superfície porosa
4	Túbulos dentinários totalmente abertos	Superfície mais porosa quando comparada ao padrão 3 (dentina intertubular) e observação de fibras colágenas

4.8 Quantificação do conteúdo mineral pelo método de fluorescência do substrato dental (QLF™)

Após finalização da fase intraoral, os espécimes de esmalte foram imediatamente submetidos à análise através do método de fluorescência do tecido dental com o auxílio do equipamento QLF™ System (Inspektor Research Systems BV, Amsterdam, NL) (figura 4.5).

Figura 4.5- Equipamento QLF™ System

Este método de quantificação mineral por fluorescência baseia-se em diferenças ópticas encontradas entre o esmalte hígido e o desmineralizado. Uma lâmpada de xenon ($\lambda = 404\text{nm}$, 10^{-20} mW/cm^2) produz um feixe azul-violeta que é conduzido à área de avaliação por meio de fibra óptica, gerando fluorescência no tecido mineralizado irradiado^[94].

O esmalte hígido, ao ser irradiado por luz azul, aparece fluorescente devido à presença de dentina subjacente. O esmalte desmineralizado, porém, aparece escuro, como resultado do espalhamento da luz. Desta forma, uma microcâmera, que contém um filtro laranja ($\lambda = 520\text{nm}$), é responsável por eliminar a luz espalhada, captar a fluorescência produzida pelo tecido iluminado e gerar as imagens.

Previamente à obtenção das imagens, todos os espécimes foram secos com jato de ar comprimido por 30 segundos para padronização do grau de desidratação do esmalte.

As imagens foram capturadas em uma câmara escura e armazenadas no próprio equipamento. Em seguida, foram analisadas pelo aplicativo Inspektor™ PRO (presente no próprio equipamento), em relação à área (A) da lesão (mm^2), a profundidade da lesão expressa através de perda de fluorescência ($\%\Delta F$) e o volume da lesão ($\%\Delta Q$), que é o índice final relativo ao valor de perda mineral do substrato analisado ($\Delta Q = \Delta F \cdot A$). Os valores de ΔQ foram analisados longitudinalmente em relação a uma medida baseline (inicial).

Em cada espécime, foram feitas 2 imagens para avaliação: baseline (figura 4.1: J) e após 14 dias de tratamento clareador/remineralizador (figura 4.1: O).

Os espécimes foram colocados em um suporte acoplado a uma mesa posicionadora na qual o operador fez os ajustes de posição. Para a imagem baseline, o operador também delimitou a área do espécime que foi analisada e então, obteve uma primeira imagem dessa área.

Para as imagens posteriores, o espécime foi corretamente posicionado na mesa. Quando ficava exatamente na mesma posição obtida para a imagem baseline, que é a imagem de referência, o equipamento fazia automaticamente a nova imagem. Isso permitiu excelente correspondência (99%) com a imagem de referência. Cada imagem foi armazenada em um banco de dados, sendo ordenadas pela identificação dos espécimes e data.

Os valores de ΔQ obtidos foram submetidos à análise estatística para verificação da homogeneidade e normalidade da amostra. Foi então, utilizado o teste estatístico de Friedman.

5 RESULTADOS

5.1 pH dos géis

O grau de acidez de todos os materiais usados no estudo foi medido, os valores podem ser observados na tabela 5.1.

Tabela 5.1- Valores de pH dos materiais usados no estudo

Materiais usados				
Opalescence PF	NiteWhite ACP	Relief ACP	Opalescence PF + Biosilicato®	Solução de Biosilicato®
6,4	5,3	6,9	6,9	11,8

5.2 Análise de dureza

Para a análise estatística dos dados de microdureza inicial e final, tanto em esmalte quanto em dentina, foi aplicado o teste t de Student pareado ($p < 0,05$).

A tabela 5.2 e figuras 5.1 e 5.2 apresentam as médias e o desvio-padrão dos valores de microdureza Knoop (KHN) inicial (0) e final (1) para os grupos estudados, tanto em esmalte (E) quanto em dentina (D). Com a aplicação do teste, pode-se constatar que:

5.2.1 Dureza do esmalte

Após finalização dos tratamentos, observa-se uma redução estatisticamente significativa dos valores de dureza do esmalte dental nos grupos Opal e Opal → Bio. Isto indica que o gel clareador Opalescence PF foi capaz de provocar desmineralização do tecido e que a aplicação de Biosilicato®, 1x por semana, durante 5 minutos não foi suficiente para impedir tal fenômeno.

Para os demais grupos (NW ACP, Opal + Bio e Opal → Rel ACP), não foi constatada alteração dos valores de dureza após finalização dos tratamentos.

Tabela 5.2- Média e desvio-padrão inicial (0) e final (1) dos valores de microdureza Knoop (KHN) para os tecidos esmalte (E) e dentina (D)

Tratamento	Tecido			
	E0	E1	D0	D1
Opal	282,8 (+-7,3)*	268,3 (+-9,5)*	50,4 (+-9,0)*	41,0 (+-5,1)*
NW ACP	281,5 (+-5,6)	279,3 (+-10,4)	48,4 (+-9,1)	44,5 (+-7,5)
Opal + Bio	287,9 (+-5,2)	287,2 (+-8,2)	49,3 (+-9,4)	47,8 (+-8,4)
Opal → Bio	282,8 (+-11,1)*	266,8 (+-6,5)*	46,6 (+-9,4)*	42,8 (+-6,3)*
Opal → Rel ACP	279,9 (+-14,7)	278,4 (+-13,7)	48,2 (+-9,0)*	43,9 (+-7,3)*

*Valores com asteriscos, na mesma linha, são estatisticamente diferentes ($p < 0.05$)

*Os grupos que contêm asterisco apresentam fases pré e pós tratamento estatisticamente diferentes ($p < 0.05$)

Figura 5.1- Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em esmalte, após aplicação dos diferentes tratamentos

5.2.2 Dureza da dentina

No grupo Opal, foi observada diminuição significativa dos valores de dureza da dentina clareada. Nos grupos Opal → Bio e Opal → Rel ACP, a aplicação dos dois materiais bioativos não foi suficiente para evitar alteração na dureza. No entanto, para os grupos NW ACP e Opal + Bio, houve manutenção dos valores de dureza iniciais.

Desta forma pode-se constatar que a mistura do material bioativo com o gel clareador é de fundamental importância para a preservação dos valores iniciais de dureza da dentina clareada.

Dentina

*Os grupos que contem asterisco apresentam fases pré e pós tratamento estatisticamente diferentes ($p < 0.05$)

Figura 5.2- Média dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN) em dentina, após aplicação dos diferentes tratamentos

5.3 Análise ultraestrutural

Os escores referentes aos graus de alteração encontrados em esmalte, dentina tubular e dentina intertubular, atribuídos por três avaliadores previamente calibrados, foram submetidos à análise de concordância, por meio do teste W de Kendall. Os resultados da aplicação desse teste mostraram concordância altamente significativa entre os avaliadores (95%). A distribuição amostral revelou dados normais e principalmente homocedásticos. Desta forma foi realizado o teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) com fator de variação único e vinculado para comparações múltiplas das médias entre as seis condições experimentais no esmalte, dentina tubular e dentina intertubular.

5.3.1 Esmalte dental

Figura 5.3- Esmalte dental submetido a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 100.000x

Na figura 5.3, é possível observar todas as condições experimentais. Nos grupos controle, NW ACP e Opal + Bio, as imagens mostram que os cristais presentes nos prismas de esmalte estão compactados e a textura superficial está mais lisa do que a dos grupos Opal → Bio e Opal → Rel ACP, nos quais é observado aumento dos espaços intercristalinos. No grupo tratado com Opal, nota-se uma superfície ainda mais rugosa e com espaços intercristalinos maiores, ao serem comparados com todos os outros grupos.

Tabela 5.3- Análise de Variância dos escores das alterações encontradas em esmalte

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios	F	Prob H0
Entre repetições	9	1,35	1,75	0,105
Entre tratamentos	5	2,16	2,81	0,027
Resíduo	45	0,77	-	-
Variação total	59	-	-	-

Na tabela 5.3, observa-se que na fonte de variação entre tratamentos foi detectada diferença significativa. Essa diferença entre tratamentos pode ser analisada na tabela 5.4 pelas letras de contraste obtidas com o teste de Tukey.

Tabela 5.4- Médias e desvios-padrão (escore das alterações em esmalte) e contrastes obtidos com o teste de Tukey (p=0,05)*

Tratamento	Médias
CO	0,85 (+-0,69) b
NW ACP	1,19 (+-0,88) ab
Opal	2,18 (+-0,79) a
Opal + Bio	1,00 (+-1,00) b
Opal → Bio	1,37 (+-1,08) ab
Opal → Rel ACP	1,33 (+-0,98) ab

*Valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0.05)

5.3.2 Dentina Tubular

Figura 5.4- Dentina tubular submetida a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 5.000x

Figura 5.5- Dentina tubular submetida a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 20.000x

Na figura 5.4, observa-se que os grupos controle, NW ACP e Opal + Bio apresentam túbulos dentinários obliterados. Nota-se assim, que esses dois últimos tratamentos clareadores não causaram desmineralização na dentina tubular.

Enquanto isso, no grupo Opal → Rel ACP, há túbulos parcialmente obliterados e, nos grupos Opal e Opal → Bio, os túbulos estão ainda mais abertos. Opal causou desmineralização no tecido dentinário e o tratamento com os materiais bioativos Relief ACP e Biosilicato® não foram suficientes para reverter a desmineralização provocada pelo tratamento clareador na dentina tubular.

Com a figura 5.5 é possível observar, em maior aumento (20.000x), a superfície dentinária em todas as condições experimentais. Isso auxilia na avaliação da figura 5.4, pois permite definir com maior clareza se os túbulos estão obliterados, parcialmente obliterados ou abertos.

Tabela 5.5- Análise de Variância dos escores das alterações encontradas em dentina tubular

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios	F	Prob H0
Entre repetições	9	2,56	3,37	0,003
Entre tratamentos	5	8,67	11,43	0,000
Resíduo	45	0,75	-	-
Variação total	59	-	-	-

Pela Análise de Variância (tabela 5.5), vê-se que, na fonte de variação entre tratamentos, foi observada diferença estatística. As diferenças entre os tratamentos podem ser observadas na tabela 5.6 a seguir.

Tabela 5.6- Médias e desvios-padrão (escore das alterações em dentina tubular) e contrastes obtidos com o teste de Tukey ($p=0,05$)*

Tratamento	Médias
CO	0,41 (+0,69) b
NW ACP	0,81 (+0,77) b
Opal	2,48 (+1,35) a
Opal + Bio	0,67 (+0,70) b
Opal → Bio	2,50 (+1,27) a
Opal → Rel ACP	1,73 (+1,23) ab

*Valores com diferentes letras, são estatisticamente diferentes ($p<0.05$)

5.3.3 Dentina intertubular

Figura 5.6- Dentina intertubular submetida a diferentes tratamentos e grupo controle, imagens com aumento de 100.000x

Na figura 5.6 é possível observar todas as condições experimentais para a dentina intertubular. Os grupos controle, NW ACP e Opal + Bio apresentam

superfícies semelhantes e menos porosas ao serem comparadas com os outros grupos.

No entanto, no grupo Opal, é possível notar que a superfície está mais porosa quando comparada com os outros grupos, o que evidencia o caráter desmineralizante do clareador nesse tecido.

Tabela 5.7- Análise de Variância dos escores das alterações encontradas em dentina intertubular

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios	F	Prob H0
Entre repetições	9	1,36	1,22	0,309
Entre tratamentos	5	6,71	5,96	0,000
Resíduo	45	1,12	-	-
Variação total	59	-	-	-

A tabela 5.7, mostra que na fonte de variação entre tratamentos foi observada diferença estatística. A diferença entre os tratamentos pode ser observada na tabela 5.8, por meio dos contrastes obtidos com o teste de Tukey.

Tabela 5.8- Médias e desvios-padrão (escore das alterações em dentina intertubular) e contrastes obtidos com o teste de Tukey (p=0,05)*

Tratamento	Médias
CO	0,41 (+-0,70) b
NW ACP	0,97 (+-0,89) b
Opal	2,67 (+-1,07) a
Opal + Bio	1,73 (+-0,78) ab
Opal → Bio	2,20 (+-1,22) ab
Opal → Rel ACP	1,76 (+-1,53) ab

*Valores com diferentes letras, são estatisticamente diferentes (p<0.05)

5.4 Análise do conteúdo mineral por fluorescência do substrato dental

Os dados obtidos por meio do método de quantificação mineral por fluorescência do substrato dental expressos em ΔQ ($\%mm^2$) foram considerados não normais e, por isso, foram submetidos ao teste de Friedman pelas suas diferenças (valor final – valor inicial). Esse teste foi escolhido pois é uma alternativa não paramétrica para o teste de experimentos em bloco na Análise de Variância regular.

Com a análise estatística, pode-se observar que o método de quantificação mineral por fluorescência do substrato dental não apresentou sensibilidade para detectar diferenças significantes entre os seis grupos experimentais (tabela 5.9).

Tabela 5.9- Médias dos ΔQ nas fases inicial e final e teste de Friedman* com as suas diferenças (final-inicial)

Fase	Tratamento				
	Opal	NW ACP	Opal + Bio	Opal → Bio	Opal → Rel ACP
Inicial	-0,024	-0,013	-0,012	-0,017	-0,023
Final	-0,129	-0,005	-0,008	-0,017	-0,015
Diferença	-0,105 a	-0,008 a	-0,004 a	0,000 a	-0,008 a

* Valor do Qui-quadrado (4,34) com GL= 4, não acusou diferenças significantes ($p=0,3619$)

Para comparar as médias dos ΔQ nas fases inicial e final, dentro de cada grupo, foi aplicado o teste t pareado (tabela 5.10 e figura 5.7). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as fases inicial e final em nenhum dos grupos.

Tabela 5.10- Médias e desvios-padrão dos ΔQ nas fases inicial e final com as suas diferenças (final-inicial) e teste t pareado, para cada um dos tratamentos

Fase	Tratamento				
	Opal	NW ACP	Opal + Bio	Opal → Bio	Opal → Rel
Inicial	-0,024 (+/-0,028)	-0,013 (+/-0,016)	-0,012 (+/-0,019)	-0,017 (+/-0,029)	-0,023 (+/-0,030)
Final	-0,129 (+/-0,145)	-0,005 (+/-0,012)	-0,008 (+/-0,015)	-0,017 (+/-0,015)	-0,015 (+/-0,026)
Diferença	-0,105 (+/-0,150)	-0,008 (+/-0,014)	-0,004 (+/-0,016)	0,000 (+/-0,032)	-0,008 (+/-0,047)
Valor de p	0,054	0,104	0,443	1,000	0,606

QLF - esmalte

*Valor entre parênteses (+/-) representa o desvio padrão da média.

Figura 5.7- Média dos valores iniciais e finais de ΔQ , após aplicação dos diferentes tratamentos em esmalte

Embora os dados de ΔQ tenham sido considerados não paramétricos, os testes acima foram realizados para evidenciar a grande variabilidade entre as repetições das diversas condições experimentais.

6 DISCUSSÃO

A literatura é controversa em relação aos efeitos indesejáveis que podem ser provocados pelos agentes clareadores à estrutura dental^[32, 92]. Dentre esses efeitos, destacam-se: diminuição de dureza^[5-7], aumento da rugosidade e permeabilidade do esmalte^[43], alteração da morfologia superficial^[7-9] e, no conteúdo mineral dos dentes^[1], degradação de colágeno na dentina^[54], bem como hipersensibilidade dental trans e pós tratamento clareador^[9, 10].

A divergência de resultados observados entre as pesquisas pode ser atribuída a diversos fatores, dentre eles, o tipo de estudo.

Apesar dos estudos *in vitro* tentarem simular as condições bucais, a dinâmica da interação da saliva com a estrutura dental é bem mais complexa, pois envolve, além da presença de saliva natural, a formação de película salivar, ação de limpeza e capacidade tampão^[94, 146].

Mesmo que a saliva artificial utilizada em pesquisas *in vitro* possa apresentar certa capacidade remineralizadora, sua ação de limpeza e capacidade tampão que poderiam minimizar os efeitos indesejáveis provocados pelos clareadores não são passíveis de reprodução^[147]. Em um estudo recente, foram avaliados os efeitos de géis clareadores com diferentes valores de pH sobre o esmalte superficial sob as condições *in vitro* e *in situ*. Os autores constataram que o esmalte humano tratado com agentes clareadores de baixo pH na condição *in vitro* foi mais suscetível à desmineralização. No entanto esse efeito adverso pôde ser eliminado pela ação da saliva humana na condição *in situ*^[146].

Dessa forma, optou-se por um estudo *in situ*, com intuito de avaliar mais precisamente a influência de materiais bioativos sobre a estrutura dental humana clareada.

Outro fator que pode contribuir para a divergência de resultados observados entre os estudos é o fato de que a maioria das pesquisas utilizam pequenos aumentos^[35, 50, 59] para avaliar as alterações morfológicas que podem ser observadas nos dentes clareados. Com isso, não levam em consideração as diferenças topográficas ultraestruturais observadas antes e depois do tratamento clareador^[35].

Para observar as alterações ultraestruturais, a utilização de uma ferramenta específica, como o FEG-SEM, torna-se necessária. Por meio desse equipamento, pode-se analisar alterações nanométricas na superfície de esmalte e dentina clareados, como acontece no presente estudo. Além disso, apesar de mais trabalhoso, o uso de repetições para a análise ultraestrutural é extremamente efetivo, pois permite a realização da análise estatística das condições experimentais^[35]. Desta forma, as imagens de microscopia não são utilizadas apenas como um recurso para ilustrar resultados.

Outra medida adotada neste estudo foi a padronização na obtenção de espécimes. Com intuito de permitir comparação mecânica, morfológica e do conteúdo mineral da estrutura dental em diferentes condições experimentais, os espécimes experimentais e controle foram obtidos de um mesmo dente. Eles foram seccionados na mesma altura e polidos simultaneamente, garantindo-se uma comparação direta entre os diferentes materiais aplicados, já que diferenças mecânicas, morfológicas e de conteúdo mineral dependem da densidade de túbulos dentinários e do grau de mineralização e orientação dos prismas de esmalte encontrados em cada região dental^[9].

6.1 Análise de dureza

O ensaio de dureza permite avaliar o impacto dos procedimentos clareadores na estrutura dental, sendo uma técnica muito utilizada^[38, 106-112]. Usando-se este teste, estágios iniciais de dissolução do esmalte, que são associados com a desmineralização e enfraquecimento da superfície, podem ser determinados^[109].

No presente estudo, foi observada redução significativa dos valores de dureza do esmalte e da dentina tratados com o gel clareador convencional Opalescence PF (tabela 5.2). Estes resultados estão de acordo com dados encontrados na literatura^[6, 8, 148] que mostram que o uso do peróxido de carbamida em baixas concentrações (10-16%) pode provocar alterações na estrutura dental, como a diminuição de dureza do esmalte e da dentina.

As pesquisas que mostram redução estatisticamente significativa dos valores de dureza após a aplicação dos clareadores atribuem esse resultado à ação do peróxido ou aos agentes ácidos e quelantes presentes nas fórmulas dos géis clareadores^[7, 9, 35, 80, 114].

No grupo Opal → Bio, também foi observada redução significativa dos valores de dureza, tanto em esmalte, quanto em dentina (tabela 5.2). Dessa forma observa-se que o gel clareador Opalescence PF foi capaz de causar desmineralização nos dois tecidos e a aplicação de Biosilicato®, 1x por semana, durante apenas 5 minutos não foi suficiente para impedir que isso ocorresse. A forma e o tempo de aplicação do Biosilicato® usado no grupo Opal → Bio foi a mesma utilizada em dois estudos encontrados na literatura, um *in vitro*^[126] e outro clínico^[149]. Ao contrário do que, agora, se observou, os autores constataram que o Biosilicato®, quando misturado com água destilada e aplicado 1x vez por semana por 5 minutos, é eficiente no tratamento da hipersensibilidade dentinária, sendo capaz de obstruir túbulos dentinários expostos e abertos. Possivelmente, o resultado contrário observado na presente pesquisa deva-se ao fato de que o Biosilicato®, na condição de aplicação apresentada acima, não ter sido utilizado apenas para tratar áreas de dentina exposta, mas para reverter um processo de desmineralização provocado pelo agente clareador convencional em esmalte e dentina, não sendo esta forma de aplicação suficiente para reverter tal fenômeno.

Para o grupo NW ACP tratado com o gel clareador que contém cálcio e fósforo, genericamente conhecido como ACP, foi observada manutenção dos valores de dureza iniciais, tanto em esmalte, quanto em dentina (tabela 5.2). É curioso notar que, mesmo com o caráter ácido desse produto (pH em torno de 5,3), não se percebeu desmineralização da superfície. Possivelmente, a precipitação de cálcio e fósforo na forma de ACP fez com que a superfície não sofresse descalcificação ou, se essa desmineralização ocorreu, os íons presentes no gel clareador foram suficientes para repor tais perdas.

Estes resultados estão de acordo com estudos *in vitro* desenvolvidos recentemente^[7-9, 35], nos quais os autores não observaram nem alterações morfológicas, nem alterações na dureza de espécimes de esmalte e dentina tratados com o agente clareador NiteWhite ACP (Phillips) à base de peróxido de carbamida a 16%. Acredita-se que o efeito observado deva-se à presença de cálcio e fósforo na formulação do clareador, ocorrendo a precipitação desses íons na superfície e

formação de uma camada de fosfato de cálcio amorfo e sua posterior cristalização em hidroxiapatita ao adquirir outros íons presentes no meio oral^[35, 150].

No grupo Opal + Bio, foi observado o mesmo comportamento do grupo NW ACP. Ou seja, a mistura do clareador Opalescence PF com a bio vitrocerâmica Biosilicato® não causou desmineralização nem em esmalte, nem em dentina (tabela 5.2). Como não existem estudos disponíveis na literatura sobre a incorporação desse material bioativo a géis clareadores, não é possível fazer comparações diretas com os resultados observados no presente estudo. Possivelmente, a bio vitrocerâmica permitiu com que os íons cálcio e fósforo fossem difundidos a partir do vidro e, somados aos íons cálcio e aos fosfatos presentes na solução, formassem uma camada de fosfato de cálcio amorfo sobre a superfície. De modo posterior, com a incorporação de íons hidroxila, carbonato e flúor presentes no meio, inicia-se a cristalização dessa camada em forma de apatita^[126, 139].

No grupo Opal → Rel, entretanto, foi constatada manutenção dos valores de dureza em esmalte e diminuição significativa dos valores de dureza em dentina após o tratamento (tabela 5.2). Sabe-se que a progressão de lesão de cárie e lesão não cariosa é mais rápida em dentina do que em esmalte, pois a dentina é rica em apatita carbonatada, sendo mais difícil para este material bioativo reverter a desmineralização no tecido dentinário^[134]. Como este é o primeiro estudo *in situ* que analisa os efeitos do gel remineralizante Relief ACP sobre a estrutura dental clareada, seus resultados não podem ser diretamente comparados.

6.2 Análise ultraestrutural

A alta resolução das imagens obtidas, usando-se o FEG-SEM, permite que alterações sutis sejam observadas e com isso, processos iniciais de dissolução tecidual sejam detectados^[22]. Então, optou-se em utilizar esse equipamento para poder avaliar de forma mais detalhada os efeitos dos materiais bioativos sobre a superfície de esmalte e dentina clareados.

6.2.1 Análise ultraestrutural do esmalte

No grupo controle (sem tratamento), observam-se os cristais que compõem os prismas e pode-se notar que eles estão bem juntos uns aos outros, em uma estrutura bem compactada (figura 5.3), compatível com o que é mostrado na literatura^[151].

Todavia, no grupo tratado com o gel clareador convencional (Opalescence PF), observa-se um processo de dissolução inicial do tecido, caracterizado pela presença de trincas entre o esmalte prismático e o interprismático, aumento dos espaços intercristalinos e da rugosidade superficial.

Estudos constataam que, nas superfícies dentais expostas aos peróxidos, ocorre perda de cálcio^[20, 152] e fosfato^[153]. A dissolução inicial do esmalte acontece, principalmente, ao longo das fendas entre o esmalte prismático e o interprismático no tecido. Quando os espaços intercristalinos da superfície do esmalte são aumentados, ocorre aumento geral da porosidade nessa superfície^[154].

Se os géis clareadores que tenham potencial de causar tais alterações sutis forem usados em protocolos de aplicação com períodos de exposição maiores, possivelmente poderão provocar aumento dessas alterações. Isto torna-se uma preocupação, considerando-se o fácil acesso, uso indiscriminado e muitas vezes abusivo dos géis clareadores por parte dos pacientes^[15].

Como já citado anteriormente, a desmineralização observada com o uso de produtos clareadores pode ser atribuída à ação do peróxido ou aos agentes ácidos e quelantes^[36] presentes nas formulações dos produtos clareadores^[96]. Vale ressaltar que o pH do gel clareador Opalescence PF é de 6,4 (tabela 5.1) e está acima do pH crítico do esmalte. Para a hidroxiapatita, principal componente das estruturas dentais, o pH crítico é 5,5. No entanto, para a fluorapatita (mineral presente principalmente na superfície do esmalte), a dissolução inicia-se em pH inferior a 4,5^[134].

Por sua vez, a literatura mostra que o uso prolongado de agentes clareadores caseiros (mais de 30 horas) provoca efeitos indesejáveis na superfície do esmalte dental, como alterações não uniformes e áreas de dissolução^[63]. Vários autores sugerem que a desmineralização da estrutura dental está relacionada com o

baixo pH dos agentes clareadores. Em contrapartida, outros estudos^[62, 65, 70, 72, 102, 155] revelam não haver alterações na estrutura dental clareada com produtos à base de peróxido de carbamida em concentrações em torno de 10%. Contudo os autores não especificam qual o pH dos produtos utilizados e a análise estrutural por MEV foi realizada com o aumento máximo de 5.000 vezes.

Nos grupos NW ACP e Opal + Bio, observa-se que os cristais presentes nos prismas de esmalte estão compactados, semelhantes aos do grupo controle (figura 5.3). A textura superficial está mais lisa que nos demais grupos experimentais.

Nos grupos Opal → Bio e Opal → Rel ACP, nota-se uma superfície menos lisa que nos grupos NW ACP e Opal + Bio, porém menos rugosa do que é observado no grupo Opal. É provável que a aplicação desses dois materiais bioativos tenha contribuído para que os danos estruturais provocados pelo gel clareador Opalescence PF não fosse maior, mas não foram suficientes para reverter o processo de desmineralização provocado por ele.

Estatisticamente falando, apenas o grupo Opal foi considerado diferente do grupo controle; os demais grupos foram considerados semelhantes ao controle.

6.2.2 Análise ultraestrutural da dentina

Para facilitar a análise das imagens de dentina, optou-se pela divisão desse substrato em duas partes estruturais: dentina tubular e dentina intertubular.

Nas imagens da dentina tubular controle (figuras 5.4 e 5.5), observa-se que os túbulos dentinários estão obliterados e a dentina intertubular apresenta superfície lisa e uniforme. Imagens semelhantes foram observadas em outra pesquisa feita por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo, que estudou o esmalte e dentina humana hígida em aumentos que variaram de 10.000 a 150.000x^[22].

No grupo Opal (figuras 5.5 e 5.6), é possível observar túbulos dentinários totalmente abertos e a superfície de dentina intertubular bem mais rugosa do que a controle, com exposição de fibrilas colágenas. Pesquisas usando imuno-histoquímica observaram degradação de colágeno após aplicação de clareadores^[156]. Outros estudos reportam evidências de alteração na matriz e no

colágeno após aplicação de clareadores na dentina e no esmalte, atribuindo esse fato a destruição oxidativa ou desnaturação do colágeno e outras proteínas da matriz^[49, 157]. Acrescentam ainda que a degradação de colágeno pode aumentar o acesso do peróxido ao mineral intrafibrilar^[156].

A maioria das alterações são observadas na dentina intertubular, porque ela possui um conteúdo orgânico de 20% em peso, já a dentina peritubular é hipermineralizada e, por isso, mais resistente ao efeito oxidativo do peróxido^[11].

Em relação à dentina tubular, os grupos NW ACP e Opal + Bio foram considerados estatisticamente semelhantes entre si e ao grupo controle (tabela 5.5). O padrão observado na superfície desses dois grupos foi de túbulos dentinários totalmente obliterados (figuras 5.4 e 5.5). Na dentina intertubular, pode-se observar padrões morfológicos preservados (figura 5.6). Desta forma nota-se que tanto para esmalte, quanto para dentina, a mistura desses dois materiais bioativos ao gel clareador é bastante interessante, pois não provoca desmineralização tecidual.

Os resultados observados no grupo NW ACP estão de acordo com pesquisas *in vitro* encontradas na literatura^[7-9, 35] e com dois estudos clínicos^[13, 14] que mostram que pacientes tratados com um gel clareador contendo ACP na formulação reportaram menos hipersensibilidade trans e pós tratamento clareador do que pacientes tratados com um gel clareador sem ACP. No entanto não há na literatura, até o presente momento, estudo algum que trate da mistura de um clareador convencional com o material bioativo Biosilicato® (grupo Opal + Bio), portanto comparações não podem ser realizadas.

No grupo Opal → Rel ACP, há túbulos dentinários parcialmente obliterados; e no grupo Opal → Bio, os túbulos estão ainda mais abertos, de modo semelhante ao observado no grupo Opal (figuras 5.4 e 5.5). Na dentina intertubular clareada e tratada com esses dois materiais bioativos, não foram notadas alterações (figura 5.6).

Resultados diferentes foram observados em um estudo *in vitro* que analisou o efeito do uso do gel Relief ACP e do Biosilicato® sobre a ultraestrutura de espécimes de dentina tubular tratada com o gel clareador convencional Whiteness Perfect (FGM, Brasil) à base de peróxido de carbamida a 16%. No grupo tratado apenas com o gel clareador, foram observados túbulos dentinários abertos. No grupo clareado e tratado com Relief ACP por 30 minutos e no grupo clareado e tratado com Biosilicato® por 5 minutos 1x por semana, foram observados túbulos

dentinários obliterados. Esses grupos foram considerados estatisticamente semelhantes ao grupo controle (não tratado) e diferentes do grupo apenas clareado. É bem provável que a divergência de resultados entre essas pesquisas deva-se aos fenômenos de des-re presentes no estudo *in situ*, pois a solução de armazenagem usada no estudo *in vitro* foi água deionizada^[9].

Quando os agentes clareadores são capazes de provocar alterações estruturais ou nanoestruturais (que indicam processo inicial de dissolução do tecido), podem surgir problemas clínicos. Neste estudo foram observadas alterações tanto em esmalte quanto em dentina tratada com um agente clareador convencional, como aumento dos espaços intercristalinos no esmalte, alterações na dentina intertubular e abertura de túbulos dentinários, que podem levar a um aumento de permeabilidade dos tecidos dentais.

A hipersensibilidade trans e pós tratamento clareador pode ser um dos efeitos clínicos resultantes do aumento da permeabilidade, permitindo facilitar a penetração do produto clareador e seus subprodutos até a polpa.

As alterações nanoestruturais observadas no esmalte clareado indicam que o agente clareador convencional pode alterar a rugosidade superficial, evidenciado pelo aumento da porosidade do esmalte superficial, aumento dos espaços intercristalinos e evidenciação dos prismas de esmalte.

Vale ressaltar que o teste de dureza e a análise ultraestrutural mostraram resultados coerentes entre si. Quando a análise ultraestrutural revelou desmineralização no substrato, isso foi acompanhado por uma diminuição dos valores de dureza. Quando não houve evidência de desmineralização no substrato tratado, os valores de dureza foram preservados.

6.3 Análise do conteúdo mineral por fluorescência do substrato dental

A análise do conteúdo mineral por fluorescência do substrato dental é uma técnica óptica que utiliza a fluorescência natural dos dentes para diferir o esmalte hígido do desmineralizado^[158]. O QLF mede a porcentagem de mudança de fluorescência do esmalte desmineralizado em relação ao esmalte hígido circundante,

quantificando o conteúdo mineral perdido durante a desmineralização^[159].

Na presente pesquisa, essa técnica de quantificação do conteúdo mineral não apresentou sensibilidade para detectar diferenças significantes entre os cinco grupos experimentais (tabela 5.9), devido à grande variabilidade entre as repetições das diversas condições experimentais.

Provavelmente, essa grande variabilidade dos valores de ΔQ entre as repetições deva-se à sensibilidade da técnica. Algumas variáveis interferem na leitura do equipamento, como: presença e espessura de película salivar e placa, grau de hidratação e coloração dos espécimes, captura de imagens com distâncias focais diferentes, espessura do espécime e presença de *smear layer*, presença de anomalias de desenvolvimento na estrutura dental, quantidade de luz ambiente no momento da mensuração^[94, 158, 159].

Para tal, algumas medidas foram adotadas na presente pesquisa, como: observação de todos os dentes através de lupa, descartando-se os que apresentassem trincas ou defeitos estruturais; os espécimes experimentais foram obtidos de um mesmo dente e divididos entre os 5 grupos; padronização da espessura dos espécimes; secagem do espécime antes da mensuração com o equipamento utilizando-se sempre o mesmo tempo e fixando a distância do jato de ar; captura de imagens com 99% de concordância com a imagem baseline (garantindo mesma distância focal).

O controle de hidratação dos espécimes, no entanto, é bem difícil de ser realizado. Ele depende do estado de hidratação do espécime obtido dentro de um período de tempo específico, dependendo também da temperatura ambiente no momento da secagem e até que a mensuração com o equipamento seja feita. Se a secagem for feita por meio de seringa de ar, vai depender ainda da pressão, tempo e distância aplicada pelo operador^[159].

Mesmo com várias medidas adotadas neste estudo, ainda foi observada grande variabilidade entre as repetições. Essa grande variação no desvio-padrão dos dados também foi observado em uma outra pesquisa^[160] que teve como objetivo determinar a habilidade de detecção de cáries incipientes por QLF. Segundo os autores, a natureza da grande variação é inerente à variabilidade biológica dos dentes, porque a desmineralização dental ocorre em taxas e intensidades diferentes de acordo com cada dente, sendo muitas vezes influenciada pelas condições orais, oferta de flúor, tempo desde a extração e idade das amostras.

Possivelmente, o QLF seja mais eficiente para detectar lesões de cárie^[158, 159, 161], não sendo muito apropriado para detectar processos iniciais de dissolução tecidual que podem ocorrer no esmalte clareado. A detecção clínica visual de lesões de cárie (mancha branca) equivaleria a um valor de $\Delta Q = -100 \text{ \%mm}^2$, em contrapartida o equipamento seria capaz de detectar precocemente lesões que equivalem a $\Delta Q = -1 \text{ \%mm}^2$ ^[94, 160]. Desta forma é compreensível que, na presente pesquisa, não tenham sido observadas evidências de desmineralização da estrutura dental clareada, pois a menor média de ΔQ encontrada foi de $-0,129 \text{ \%mm}^2$ (média final de ΔQ para o grupo Opal).

Resultados diferentes foram observados em um estudo *in situ* que monitorou por QLF, o processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental com diferentes produtos: grupo 1 (peróxido de hidrogênio 35% - Pola Office, SDI), grupo 2 (peróxido de hidrogênio 7,5% - Pola Day, SDI), grupo 3 (peróxido de hidrogênio 7,5% com ACP – DayWhite ACP, Phillips), grupo 4 (controle positivo, aplicação de ácido fosfórico 35%). No grupo 4, foi observado maior grau de desmineralização em relação aos demais. Todos os agentes clareadores ocasionaram diferentes níveis de desmineralização no esmalte, sendo que o gel clareador com ACP (grupo 3) foi capaz de reduzir o processo de desmineralização durante o período do tratamento clareador. Os autores perceberam que os níveis de desmineralização decorrentes do tratamento clareador são significativamente inferiores quando comparados a outras lesões^[94].

Provavelmente a divergência de resultados observados entre o estudo citado acima e a presente pesquisa deva-se ao uso de diferentes géis clareadores e diferentes protocolos de aplicação.

7 CONCLUSÕES

Após realização do ensaio de dureza, análise ultraestrutural e quantificação mineral por fluorescência do substrato dental, foi possível constatar que:

- O gel clareador convencional provocou desmineralização em esmalte e dentina, evidenciado por alterações ultraestruturais e diminuição da dureza.
- A aplicação de Biosilicato® 1x por semana, por 5 minutos, não foi suficiente para evitar alterações negativas, tanto em esmalte, quanto em dentina clareados.
- O material bioativo Relief ACP, aplicado durante 30 minutos diários após o tratamento clareador, foi capaz de evitar alterações negativas em esmalte, mas não em dentina.
- A mistura de gel clareador com os materiais bioativos ACP e Biosilicato®, como acontece nos grupos NW ACP e Opal + Bio, teve influência positiva em relação à dureza e morfologia da estrutura dental, evitando sua desmineralização; nesses dois grupos foram observados os melhores resultados tanto de dureza, quanto na análise ultraestrutural.
- A técnica de quantificação do conteúdo mineral não apresentou sensibilidade para detectar diferenças significantes entre os grupos experimentais.

REFERÊNCIAS¹

1. Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod.* 2000 Apr;26(4):203-6.
2. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. Micromorphology and surface roughness of sound and demineralized enamel and dentin bleached with a 10% carbamide peroxide bleaching agent. *Am J Dent.* 2007 Apr;20(2):97-102.
3. Pinto CF, Oliveira R, Cvalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz oral res.* 2004 Oct/Dec;18(4):306-11.
4. Romano JJF, Turssi CP, Rodrigues AL, Serra MC. Concentration-dependent effect of bleaching agents on micro hardness and roughness of enamel and dentin. *Am J Dent.* 2007;20(1):31-40.
5. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: A review. *Dent Mater.* 2008:15.
6. Azer SS, Machado C, Sanchez E, Rashid R. Effect of home bleaching systems on enamel nanohardness and elastic modulus. *J Dent.* 2009 Mar;37(3):185-90.
7. Pinheiro HB, Cardoso PEC. Efeito de diferentes géis clareadores sobre a dentina humana: análise microestrutural e de dureza. *Rev Assoc Paul Cirurg Dent.* 2010;64(5):346-51.
8. Pinheiro, HB. Influência de cinco géis clareadores e de um gel remineralizante sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.
9. Pinheiro HB, Lopes B, Klautau EB, Cardoso J, Silva BR, Cardoso PEC. Influence of bioactive materials used on the dentin surface whitened with carbamide peroxide 16%. *Mater Res.* 2010;13(2):273-8.

¹De acordo com o estilo Vancouver.

10. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: Biologic adverse effects - A review. *Quintessence Int.* 2008;39(8):645-59.
11. Chng HK, Ramli H, Yap AUP, Lim CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. *J of Dentistry.* 2005;33:363-9.
12. Esberard R, Esberard RR, Esberard RM, Consolaro A, Pameijer CH. Effect of bleaching on the cemento-enamel junction. *Am J Dent.* 2007 Aug;20(4):245-9.
13. Giniger M, MacDonald BS, Ziemba S, Felix H. The clinical performance of professionally dispensed bleaching gel with added amorphous calcium phosphate. *JADA.* 2005;133:383-92.
14. Giniger S. Comparative study of original NiteWhite vs new NiteWhite ACP: a 180-day study of tooth color & three sensitivity measures. *Research Report-Discus Dental.* 2004:1-3.
15. Hewlett ER. Etiology and management of whitening-induced tooth hypersensitivity. *J Calif Dent Assoc.* 2007 Jul;35(7):499-506.
16. Ziebolz D, Hannig C, Attin T. Influence of a desensitizing agent on efficacy of a paint-on bleaching agent. *Am J Dent.* 2008 Apr;21(2):77-82.
17. Goldstein J, Newbury D, Joy D, Lyman C, Echlin P, Lifshin E. *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis.* 3^o ed. New York: Kluwer Academic; 2003.
18. Langhorst SE, O'Donnell JN, Skrtic D. In vitro remineralization of enamel by polymeric amorphous calcium phosphate composite: quantitative microradiographic study. *Dent Mater.* 2009; 25(7):884-91.
19. Lee C. Effect of bleaching on microhardness, morphology and color enamel. *Gen Dent* 1995 Mar-Apr;43(2):158-62.
20. McCracken MS, Haywood VB. Effects of 10% carbamide proxide on the subsurface hardness of enamel. *Quintessence* 1995;26(1):21-4.
21. Pinheiro H, Cardoso P. Influence of five home whitening gels and a remineralizing gel on the enamel and dentin ultrastructure and hardness. *American Journal of Dentistry.* 2011 June, 2011;24(3):131-37.
22. Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. *J Biomed Mater Res.* 1999 Sep 5;46(3):315-23.

23. Adeyemi AA, Jarad FD, Pender N, Higham SM. Comparison of quantitative light-induced fluorescence (QLF) and digital imaging applied for the detection and quantification of staining and stain removal on teeth. *J Dent.* 2006 Aug;34(7):460-6.
24. Attin T. Susceptibility of enamel surfaces to demineralization after application of fluoridated carbamide peroxide gels. *Caries Res.* 2003 mar-apr;37(2):29-39.
25. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil.* 1997 Apr;24(4):282-6.
26. Tung MS, Eichmiller FC. Amorphous calcium phosphates for tooth mineralization. *Compend Contin Educ Dent.* 2004 Sep;25(9 Suppl 1):9-13
27. Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent.* 2009 Aug 4.
28. Wang ZJ, Sa Y, Ma X, Wang YN, Jiang T. [The preparation of nano-hydroxyapatite and preliminary observation on its effects on the occlusion of dentinal tubule]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2009 May;44(5):297-300.
29. Geiger S, Matalon S, Blasbalg J, Tung M, Eichmiller FC. The clinical effect of amorphous calcium phosphate (ACP) on root surface hypersensitivity. *Oper Dent.* 2003 Sep-Oct;28(5):496-500.
30. Giulio AB, Matteo Z, Serena IP, Silvia M, Luigi C. In vitro evaluation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) effect on stripped enamel surfaces. A SEM investigation. *J Dent.* 2009 Mar;37(3):228-32.
31. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent.* 2007 Aug;35(8):695-8.
32. Joiner A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J of Dentistry.* 2006;34:412-19.
33. Cai F, Shen P, Walker GD, Reynolds C, Yuan Y, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *J Dent.* 2009 Oct;37(10):763-8.
34. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res.* 2001 Dec;80(12):2066-70.

35. Pinheiro HB, Cardoso PE. Influence of five home whitening gels and a remineralizing gel on the enamel and dentin ultrastructure and hardness. *Am J Dent*. 2011 Jun;24(3):131-7.
36. Basting RT, Rodrigues AL, Jr., Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide, carbopol and/or glycerin on enamel and dentin microhardness. *Oper Dent*. 2005 Sep-Oct;30(5):608-16.
37. Maia E, Baratieri LN, Andrada MAC, Monteiro Jr. The influence of two home applied bleaching agents on enamel microhardness: An in situ study. *J of Dentistry*. 2008;36:2-7.
38. Rehder Neto FC, Maeda FA, Turssi CP, Serra MC. Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent*. 2009 Oct;37(10):786-90.
39. Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputadorised tomography evaluation of carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent*. 2005 Aug;33(7):561-7.
40. Barbosa CM, Sasaki RT, Florio FM, Basting RT. Influence of in situ post-bleaching times on resin composite shear bond strength to enamel and dentin. *Am J Dent*. 2009 Dec;22(6):387-92.
41. Haywood VB, Houck VM, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: effects of various solutions on enamel surface texture and color. *Quintessence Int*. 1991 oct;22(10):775-82.
42. McEvoy S. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth - Current techniques and their clinical application. *Quintessence Int*. 1989 jun;20(6):379-84.
43. Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues AL, Serra MC, Pécora JD, Froner IC. Effect of bleaching agents on enamel permeability. *Am J Dent*. 2006;19(5):313-16.
44. 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.
45. Oliveira M, Pacheco J, Oliveira A, Oshima H. Influência do peróxido de carbamida a 10% sobre a estrutura do esmalte. *Rev Odontol Ciência*. 2002 out-dez;17(38):415-9.
46. Andrade AP. Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.

47. Cimilli H, Pamejer CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *J Amer Dent Assoc* 2001;14(2):63-6.
48. Covington JS, Friend GW, Lamoreaux WJ. Carbamide peroxide tooth bleaching: effects on enamel composition and topography. *J Dent Res* 1990; 69:175 (abstr nº 2433).
49. Rotstein L. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin e cementum. *J Endod.*1992;16(6):290-3.
50. Ben-Amar A, Liberman R, Gorfil C, Bernstein Y. Effect of mouthguard bleaching on the enamel surface. *Am J Dent.* 1995 fev;8(1):29-32.
51. Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the longterm effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *Gen Dent.* 1998 jan-fev;46(1):848.
52. McGuckin RS, Babin JF, Meyer BJ. Alterations in human dental enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosth Dent.* 1992 nov;68(5):754-60.
53. Miranda CB, Pagani C, Benetti AR, Matuda FS. Avaliação da Microdureza do esmalte dental humano submetido ao tratamento clareador. *Rev Ibero-americana Odontol Estet Dentística* 2006;5(18):156-62.
54. Toledano M, Yamauti M, Osorio E, Osorio R. Bleaching agents increase metalloproteinases-mediated collagen degradation in dentin. *J Endod.* 2011 Dec;37(12):1668-72.
55. 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 Oct;92(4):337-42.
56. Basting RT, Rodrigues AL, Jr., Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J Am Dent Assoc.* 2003 Oct;134(10):1335-42.
57. Akal N, Over H, Olmez A, Bodur H. Effects of carbamide peroxide containing bleaching agents on the morphology and subsurface hardness of enamel. *J Clin Pediatr Dent.* 2001 Summer;25(4):293-6.
58. Bitter NC, Sanders JL. The effect of four bleaching agents on the enamel surface: a scanning electron microscopic study. *Quintessence Int.* 1993 Nov;24(11):817-24.

59. Spaldin M, Taveira LAA, 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 Res Dent*. 2003;15(3):154-64.
60. Justino LM, Tames DR, Demarco FF. In situ and in vitro effects of bleaching with carbamide peroxide on human enamel. *Oper Dent*. 2004 Mar-Apr;29(2):219-25.
61. Cavalli V, Arrais CAG, Giannini M, Ambrosano GMB. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. *J Oral Rehab*. 2004;31:155-59.
62. Shannon H, Spencer P, Gross K, Tira D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int*. 1993 Jan;24(1):39-44.
63. Bitter NC. A scanning electron microscopy study of the effect of bleaching agents on enamel: a preliminary report. *J Prosthet Dent*. 1992 Jun;67(6):852-5.
64. 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. *J Dent Child*. 1996;63(4):249-56.
65. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of Crest Whitestrips bleaching on surface morphology and fracture susceptibility of teeth in vitro. *J Clin Dent*. 2003;14(4):82-7.
66. Duschner H, Gotz H, White DJ, Kozak KM, Zoladz JR. Effects of hydrogen peroxide bleaching strips on tooth surface color, surface microhardness, surface and subsurface ultrastructure, and microchemical (Raman spectroscopic) composition. *J Clin Dent*. 2006;17(3):72-8
67. Cobankara FK, Unlu N, Altinoz HC, Fusun O. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. *Int Dent J*. 2004 Aug;54(4):211-8.
68. Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zonnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int*. 1996 Jan;27(1):53-6.
69. Zalkind, M., et al., *Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study*. *Endod Dent Traumatol*, 1996. **12**(2): p. 82-8.

70. Worschech CC, Rodrigues JA, Martins LR, Ambrosano GM. Brushing effect of abrasive dentifrices during at-home bleaching with 10% carbamide peroxide on enamel surface roughness. *J Contemp Dent Pract*. 2006 Feb 15;7(1):25-34.
71. Moraes, RR. Carbamide peroxide bleaching agents: effects on surface roughness of enamel, composite and porcelain. *Clin Oral Investig*. 2006;10(1):23-8.
72. Leonard JR, Eagle JC, Garland GE. Nightguard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. *J Esthet Dent*. 2001;13(2):132-39.
73. Spaldin, M., Estudo "in vitro" do aspecto morfológico da superfície do esmalte e alteração na permeabilidade dentária após clareação. Bauru: Universidade de São Paulo; 2005
74. Joiner A, Thakker G, Cooper Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentin microhardness in vitro. *J of Dentistry*. 2004;32:27-34.
75. Titley K, Torneck CD, Smith DC. Effect of concentrated hydrogen peroxide solution on the surface morphology of cut human dentin. *Endod Dent Traumatol*. 1988 Feb;4(1):32-6.
76. Attin T, Muller T, Patyk A, Lennon AM. Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel. *Oper Dent*. 2004 Mar-Apr;29(2):188-95.
77. Lewinstein I, Hirschfeld Z, Stabholz A, Rotstein I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. *J Endod*. 1994 Feb;20(2):61-3.
78. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Brancalion ML, Arruda MA, Berger SB, et al. Effects of bleaching agents containing fluoride and calcium on human enamel. *Quintessence Int*. 2010 Sep;41(8):e157-65.
79. Sasaki RT, Barbosa MC, Florio FM, Basting RT. Enamel microhardness and shear bond strength after treatment with an 18% carbamide peroxide bleaching varnish. *Am J Dent*. 2007 Oct;20(5):324-8.
80. Soldani P, Amaral CM, Rodrigues JA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching and thickening agents on human dental enamel. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2010 Apr;30(2):203-11.
81. Unlu N, Cobankara FK, Altinoz C, Ozer F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *J Oral Rehabil*. 2004 Jan;31(1):57-61.

82. Faraoni-Romano JJ, Da Silveira AG, Turssi CP, Serra MC. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. *J Esthet Restor Dent*. 2008;20(6):395-402; discussion 3-4.
83. Arcari GM, Baratieri LN, Maia HP, De Freitas SF. Influence of the duration of treatment using a 10% carbamide peroxide bleaching gel on dentin surface microhardness: an in situ study. *Quintessence Int*. 2005 Jan;36(1):15-24.
84. Rodrigues JA, Marchi GM, Ambrosano GM, Heymann HO, Pimenta LA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dent Mater*. 2005 Nov;21(11):1059-67.
85. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of Crest Whitestrips bleaching on subsurface microhardness and ultrastructure of tooth enamel and coronal dentin. *Am J Dent*. 2004 Feb;17(1):5-11.
86. Tezel H, Ertas OS, Ozata F, Dalgar H, Korkut ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence Int*. 2007 Apr;38(4):339-47.
87. Carrasco LD, Froner IC, Corona SA, Pecora JD. Effect of internal bleaching agents on dentinal permeability of non-vital teeth: quantitative assessment. *Dent Traumatol*. 2003 Apr;19(2):85-9.
88. Carrasco LD, Zanello Guerisoli DM, Pecora JD, Froner IC. Evaluation of dentin permeability after light activated internal dental bleaching. *Dent Traumatol*. 2007 Feb;23(1):30-4.
89. Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching: an in vitro study. *J Am Dent Assoc*. 2010 May;141(5):546-51.
90. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralisation. *Br Dent J*. 2005 Mar 12;198(5):285-90; discussion 0.
91. Joiner A, Collins LZ, Cox TF, Pickles MJ, Weader E, Liscombe C, et al. The measurement of enamel and dentine abrasion by tooth whitening products using an in situ model. *Int Dent J*. 2005;55(3 Suppl 1):194-6.
92. Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentin properties. *J of Dentistry*. 2007;35:889-96.
93. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res*. 1981;15(1):109-14.

94. Andrade AP. Monitoramento do processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.
95. J Jorgensen MG, Carroll WB. Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. JADA. 2002 aug;133:1076-82.
96. Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. J Endod. 1992 Jul;18(7):315-7.
97. Crim GA. Post-operative bleaching: effect on microleakage. Am J Dent. 1992;5(2):109-12.
98. Castello RR, Monnerat AF. Avaliação das alterações estruturais em esmalte submetido ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%. Rev. bras. Odontol. 2004;61(3):160-64.
99. Haywood VB, Haymann HO. Nightguard vital bleaching. Quintessece Int. 1989;20(3):173-76.
100. Hegedus 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 Sep;27(7):509-15.
101. Yeh ST, Su Y, Lu YC, Lee SY. Surface changes and acid dissolution of enamel after carbamide peroxide bleach treatment. Oper Dent. 2005 Jul-Aug;30(4):507-15.
102. Haywood VB, Leech T, Heymann HO, Crumpler D, Bruggers K. Nightguard vital bleaching: effects on enamel surface texture and diffusion. Quintessence Int. 1990 Oct;21(10):801-4.
103. Nucci C, Marchionni S, Piana G, Mazzoni A, Prati C. Morphological evaluation of enamel surface after application of two 'home' whitening products. Oral Health Prev Dent. 2004;2(3):221-9.
104. Basting RT, Rodrigues Junior AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. Oper Dent. 2001 Nov-Dec;26(6):531-9.
105. Esberard RR, Consolaro A, Esberard RM, Bonetti I, Esberard RR. Efeitos das técnicas e dos agentes clareadores externos na morfologia da junção amelocementária e nos tecidos dentários que a compõe. R Dental Press Estét. 2004 out-dez;1(1):58-72.

106. Ablal MA, Kaur JS, Cooper L, Jarad FD, Milosevic A, Higham SM, et al. The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: an in vitro study. *J Dent*. 2009 Nov;37(11):835-9.
107. Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*. 1997 Mar;42(3):243-50.
108. Casals E, Boukpassi T, McQueen CM, Eversole SL, Faller RV. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *J Contemp Dent Pract*. 2007;8(7):1-10.
109. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci*. 2000 Apr;108(2):110-4.
110. Nakashima S, Yoshie M, Sano H, Bahar A. Effect of a test dentifrice containing nano-sized calcium carbonate on remineralization of enamel lesions in vitro. *J Oral Sci*. 2009 Mar;51(1):69-77.
111. Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. *J Am Dent Assoc*. 2009 Apr;140(4):455-60.
112. Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent*. 2008 Jan;36(1):74-9.
113. Attin T, Vollmer D, Wiegand A, Attin R, Betke H. Subsurface microhardness of enamel and dentin after different external bleaching procedures. *Am J Dent*. 2005 Feb;18(1):8-12
114. Pinheiro Jr EC. Ação dos géis clareadores que contêm peróxido de carbamida sobre a microdureza do esmalte humano. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 1996.
115. Soldani P. Alterações na microdureza do esmalte dental humano tratado in vitro e in situ com diferentes sistemas clareadores e espessantes. Guarulhos: Universidade de Guarulhos; 2006.
116. Crews KM, Duncan D, Lentz D, Gordy FM, Tolbert B. Effect of bleaching agents on chemical composition of enamel. *Miss Dent Assoc J*. 1997 Spring;53(1):20-1.
117. Oliveira MT PJ, Oliveira ACC, Oshima HMS. Influência do peróxido de carbamida a 10% sobre a estrutura do esmalte. *Rev Odontol Ciência*. 2002 out-dez;17(38):415-9.

118. Gmur R, et al. In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel mineralization. *Clin Oral Investig*.2006;10(3):187-95.
119. Palo RM, Valera MC, Camargo SE, Camargo CH, Cardoso PE, Mancini MN, et al. Peroxide penetration from the pulp chamber to the external root surface after internal bleaching. *Am J Dent*. 2010 Jun;23(3):171-4.
120. Lima AF, Fonseca FM, Cavalcanti AN, Aguiar FH, Marchi GM. Effect of the diffusion of bleaching agents through enamel on dentin bonding at different depths. *Am J Dent*. 2010 Apr;23(2):113-5.
121. Jorgensen MG, Carroll WB. Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment. *J Am Dent Assoc*. 2002 Aug;133(8):1076-82; quiz 94-5.
122. Leonard RH, Jr., Haywood VB, Phillips C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. *Quintessence Int*. 1997 Aug;28(8):527-34.
123. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J*. 2006 Apr 8;200(7):371-6.
124. Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Canad Dent Assoc*. 2003. p. 221-6.
125. Pereira JC, Segala AS. In vitro effect of KO x based desensitizing agents on hydraulic conductance of human dentin, submitted to different surface treatments. *J Dent Res*. 1999;78:252.
126. Tirapelli C. Avaliação da eficácia de um biomaterial e conhecidos agentes dessensibilizantes no tratamento da hipersensibilidade dentinária—estudo in vitro e in vivo. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2007.
127. Addy M, Urquhart E. Dentine hypersensitivity: its prevalence, aetiology and clinical management. *Dent Update*. 1992 Dec;19(10):407-8, 10-2.
128. Ferraris MEG, Muñoz AC. Esmalte. *Histologia e Embriologia bucodental*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 245-86.
129. Giannini M, Cavalli V, Paes Leme AF. Effect of carbamide peroxide-based bleaching agents containing fluoride or calcium on tensile strength of human enamel. *J Applied Oral Science*. 2006; 11:82-7.
130. Pinheiro H. Influência de cinco géis clareadores e de um gel remineralizante sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.

131. Schumacher GE, Antonucci JM, O'Donnell NR, Skrtic D. The use of amorphous calcium phosphate composites as bioactive basing materials. *J Amer Dent Ass.* 2007;138(11):1476-84.
132. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist.* 1998;18(1):8-16.
133. Reynolds EC, Cain CJ, Weber FL, Black CL, Riley PF, Johson IH. Anticariogenicity of amorphous calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res.* 1995(74):1272-79.
134. Garone W, Silva AV, Garone FP. Erosão. Lesões não cariosas - O novo desafio da odontologia. 1º ed. São Paulo: Santos; 2008. p. 45-78.
135. Tames D, Grando LJ, Tames DR. Alterações do esmalte dental submetido ao tratamento com peróxido de carbamida 10%. *Rev Assoc Paul Cirurg Dent.* 1998 mar/abr;52(2):145-9.
136. Jiang T, Ma X, Wang Z, Tong H, Hu J, Wang Y. Beneficial effects of hydroxyapatite on enamel subjected to 30% hydrogen peroxide. *J Dent.* 2008 Nov;36(11):907-14.
137. Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006 Nov;17(11):967-78.
138. Hench LL. Bioactive materials: the potential for tissue regeneration. *J Biomed Mater Res.* 1998 Sep 15;41(4):511-8.
139. Hench LL. Biomaterials: a forecast for the future. *Biomaterials.* 1998 Aug;19(16):1419-23.
140. Siqueira RL, Zanotto ED. Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade. *Quim Nova.* 2011;34(7):1231-41.
141. Zanotto ED. A bright future for glass-ceramics. *Am Ceram Soc Bull.* 2012;89(8):19-27.
142. Bishara SE, Olsen ME, Damon P, Jakobsen JR. Evaluation of a new light-cured orthodontic bonding adhesive. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1998 Jul;114(1):80-7.
143. Ferraris MEG, Muñoz AC. Complexo dentino-pulpar. *Histologia e Embriologia bucodental.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 213-44.

144. Kumar M, Sequeira PS, Peter S, Bhat GK. Sterilisation of extracted human teeth for educational use. *Indian J Med Microbiol.* 2005 Oct;23(4):256-8.
145. Ferreira M. Preparo de amostras para a realização do teste de microdureza. Florianópolis: UFSC; 2004.
146. Sa Y, Chen D, Liu Y, Wen W, Xu M, Jiang T, et al. Effects of two in-office bleaching agents with different pH values on enamel surface structure and colour: An in situ vs. in vitro study. *J Dent.* 2012 Feb 27:9.
147. Andrade AP. Efeito da técnica de clareamento no conteúdo mineral do esmalte dental humano. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
148. Cakir FY, Korkmaz Y, Firat E, Oztas SS, Gurgan S. Chemical analysis of enamel and dentin following the application of three different at-home bleaching systems. *Oper Dent.* 2011 Sep-Oct;36(5):529-36.
149. Tirapelli C, Panzeri H, Lara EH, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. The effect of a novel crystallised bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study. *J Oral Rehabil.* 2011 Apr;38(4):253-62.
150. Zhao J, Liu Y, Sun WB, Zhang H. Amorphous calcium phosphate and its application in dentistry. *Chem Cent J.* 2011;5:40.
151. Fejerskov O, Edwina K. Interações químicas entre o dente e os fluídos orais. Cárie dentária: A doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Santos; 2005. p. 49-69.
152. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod.* 1996 Jan;22(1):23-5.
153. Santini A, Pulham CR, Rajab A, Ibbetson R. The effect of a 10% carbamide peroxide bleaching agent on the phosphate concentration of tooth enamel assessed by Raman spectroscopy. *Dent Traumatol.* 2008 Apr;24(2):220-3.
154. Fejerskov O, Kidd E. Características Clínicas e Histológicas da Cárie Dentária. Cárie dentária: A doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Santos; 2005. p. 71-84.
155. Worschech CC, Rodrigues JA, Martins LR, Ambrosano GM. In vitro evaluation of human dental enamel surface roughness bleached with 35% carbamide peroxide and submitted to abrasive dentifrice brushing. *Pesqui Odontol Bras.* 2003 Oct-Dec;17(4):342-8.

156. Tam LE, Noroozi A. Effects of direct and indirect bleach on dentin fracture toughness. *J Dent Res.* 2007;86(12):1193-97.
157. Chen TC, Shea DA, Morris MD. Effect of hydrogen peroxide bleaching on bone mineral/matrix ratio. *Appl Spectrosc.* 2002;56:1035-37.
158. Van der Veen MH, Josselin JE. Application of quantitative light-induced fluorescence for assessing early caries lesions. *Monogr Oral Sci.* 2000;17:144-62.
159. Amaechi BT, Higham SM. Quantitative light-induced fluorescence: a potential tool for general dental assessment. *J Biomed Opt.* 2002 Jan;7(1):7-13.
160. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. Detection of in vitro demineralization of primary teeth using quantitative light-induced fluorescence (QLF). *Int J Paediatr Dent.* 2002 May;12(3):158-67.
161. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The use of QLF to quantify in vitro whitening in a product testing model. *Br Dent J.* 2001 Nov 24;191(10):566-9.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****Comitê de Ética em Pesquisa****PARECER DE APROVAÇÃO
FR351834
Protocolo 136/2010**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o Projeto de pesquisa **“Influência de quatro géis clareadores sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina humanos: estudo in situ”**, de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Helena Burlamaqui Pinheiro, sob orientação do(a) Prof.(a.) Dr.(a.) Paulo Eduardo Capel Cardoso.

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 a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 18 de agosto de 2010.

Prof. Dra. Marcia Turolla Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Instituição/Departamento: FOUSP/Departamento de Materiais Dentários e Bioquímica Oral.

Telefone para contato: (11) 8245-5424

Local da coleta de dados: Consultório do Departamento de Materiais Dentários e Bioquímica Oral.

Declaro através deste instrumento, para efeitos éticos e legais, que eu (nome) _____, (nacionalidade) _____, (profissão) _____, portador(a) do R.G. nº _____, C.P.F. nº _____, residente à _____, na cidade _____, fui convidado a participar da pesquisa: “Influência de quatro géis clareadores sobre a ultra-estrutura e microdureza do esmalte e da dentina humanos: estudo *in situ*”, de forma totalmente **voluntária**. Este estudo será conduzido sob responsabilidade dos pesquisadores: Helena Burlamaqui Pinheiro (RG nº 2641791 e CRO nº 93754) e Paulo Eduardo Capel Cardoso (RG nº 8836633-9 e CRO nº 27347) e, para tanto, concordo com absoluta consciência com os procedimentos (especificados abaixo) a que vou me submeter para sua realização.

Objetivo do estudo: avaliar a influência de quatro géis clareadores sobre o esmalte e a dentina de dentes humanos.

Procedimentos: Sua participação nesta pesquisa consistirá no uso de um dispositivo palatino intraoral (aparelho em acrílico que deverá ser usado no “céu da boca”, como se fosse um aparelho de contenção ortodôntica), com fragmentos esterilizados de esmalte e

dentina humana. Você deverá aplicar diferentes géis clareadores na superfície desse dispositivo (aparelho). Antes do tratamento ser iniciado, a forma de aplicação dos géis será minuciosamente explicada e qualquer dúvida será esclarecida.

Benefícios: Você irá receber, durante 1 ano, avaliação clínica periódica e, se necessário, terá direito de realizar tratamentos preventivos, como: profilaxia profissional, raspagem supra-gengival, aplicação tópica de flúor e orientação profissional sobre técnicas de escovação e manutenção da higiene oral. Além disso, esta pesquisa trará maior conhecimento sobre o tema abordado para você e para a comunidade científica em geral.

Riscos: Não serão provocados danos aos seus dentes pela ação direta dos géis clareadores, pois os mesmos serão colocados diretamente em contato apenas com o dispositivo palatino (aparelho). O dispositivo (aparelho) será adaptado na sua boca para que não provoque nenhuma lesão ou desconforto na sua bochecha, língua, gengiva, lábios e dentes. Serão agendadas consultas semanais para que você seja avaliado e questionado sobre algum desconforto. Nestas consultas, se constatado algum problema, devidas providências serão tomadas, indo desde o alívio do dispositivo à suspensão ou encerramento do tratamento.

Sigilo: As informações fornecidas por você serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Os sujeitos da pesquisa não serão identificados em nenhum momento, mesmo quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer forma.

Prezado(a) Senhor(a):

- Antes de concordar em participar desta pesquisa é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento.
- Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes de você decidir participar.
- Você tem o direito de **desistir** de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade.

Por estar de pleno acordo com o teor do presente termo, assino abaixo o mesmo.

São Paulo, ____ de ____ de 2011.

Assinatura do Voluntário

Pesquisadora (Helena Burlamaqui Pinheiro)

Pesquisador (Paulo Eduardo Capel Cardoso)