**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

KAREN PINTADO PALOMINO

**Avaliação de agentes remineralizadores e dessensibilizantes no
tratamento de clareamento dental: estudo *in vitro***

Ribeirão Preto
-2013-

KAREN PINTADO PALOMINO

**Avaliação de agentes remineralizadores e dessensibilizantes no
tratamento de clareamento dental: estudo *in vitro***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto, da
Universidade de São Paulo, para a obtenção
do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Tirapelli

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto
-2013-

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP - Ribeirão Preto

Pintado-Palomino, Karen

Avaliação de agentes remineralizadores e dessensibilizantes no tratamento de clareamento dental: estudo *in vitro*. Ribeirão Preto, 20013.

79 p.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Versão corrigida da Dissertação. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Tirapelli.

1. Agentes clareadores.
2. Esmalte.
3. Dentina.
4. Rugosidade superficial.
5. Microdureza.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Pintado-Palomino, Karen

Avaliação de agentes remineralizadores e dessensibilizantes no tratamento de clareamento dental: estudo *in vitro*. Ribeirão Preto, 2013.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Aprovado em ____/____/____

Banca Examinadora

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

Instituição: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____ Assinatura: _____

A Deus

Companheiro fiel da minha jornada.

Obrigada por cuidar de mim, guiar meus caminhos e derramar muitas bênçãos.

Ao SENHOR dedico este trabalho e a minha vida!

Aos meus Pais

Guillermo Pintado Córdova e Lucrecia Palomino Oquendo, exemplo de perseverança e coragem, obrigada pelo amor infinito, incentivo e apoio incondicional em todos os projetos da minha vida. Amo muito vocês!

Aos meus Irmãos

Tony e Diego, companheiros inseparáveis por toda vida, pelo grande incentivo nas horas difíceis e pelos momentos especiais que mesmo não estando com vocês acompanhei-os de coração.

A vocês amada família, dedico este trabalho!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profa. Dra. Camila Tirapelli, minha querida orientadora, pela pessoa humana, gentil e sempre atenciosa. Obrigada por acreditar em mim, me oferecer muitas oportunidades para o desenvolvimento profissional, pela dedicação e empenho para a elaboração deste trabalho. Serei sempre agradecida pela hospitalidade, paciência e incentivo na minha vida profissional e pessoal. Minha eterna admiração e carinho!

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP – USP)**, que me acolheu na Pós-Graduação e me permite crescer profissionalmente.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pelo auxílio pesquisa alocado para este estudo.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa Mestrado.

A todos os Funcionários do departamento de Materiais Dentários e Prótese.

Aos **Docentes do Curso de Mestrado em Reabilitação Oral da FORP – USP** pelos valiosos conhecimentos compartilhados, ensinamentos e disposição que me ofereceram para o avanço e amadurecimento profissional.

À **Prof^a. Dr^a. Regina Maura Fernandes**, pela grande oportunidade de aprender ao seu lado na Clínica de Prótese Fixa. A minha admiração pelo seu trabalho!

À **Dr^a. Ana Carolina Motta**, por acreditar no meu profissionalismo, e abrir as portas para que eu pudesse chegar aqui.

Aos meus amigos, **Júlio César de Souza Matta** e **Jose Carlos Ferreira Junior**, técnicos dos laboratórios de apoio clínico e prótese da clínica do DAPE, pelo imenso carinho, paciência e conversas tão amenas durante este período do trabalho.

Ao **Laboratório de Materiais Vítreos – LaMaV da Universidade Federal de São Carlos, e Laboratório de formulações HELP**, por fornecerem o material experimental.

Ao **Edson Volta e Ricardo de Souza Antunes**, técnicos do Laboratório de Núcleo Integrado de Pesquisa em Biocompatibilidade de Materiais, obrigada pelo auxílio e disposição em ajudar-me.

Ao **Químico Rodrigo Silva** da Central Analítica de Microscopia Eletrônica de Varredura, do departamento de Química de Ribeirão Preto pela disposição nas leituras da MEV.

Ao **Centro de Apoio ao Professor e Estudante Estrangeiro (CAPEE)** da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, representado por Fernanda dos Reis Almeida pela assistência e auxílio nas providências necessárias para o estabelecimento no Brasil.

Aos meus colegas do curso de mestrado, **Luciana, Maurício, Glauber, Flávia, Denise, Mariana, Lauren, Gustavo, Danilo e Raniel** pela amizade e convivência nesses dois anos que passamos juntos.

Ao **Raphael Motta e Roberto Juns**, obrigada pelo companheirismo, apoio e alegria contagiante. Foi uma linda experiência compartilhar com vocês as nossas viagens nos congressos.

Ao meu grande amigo **Diogo Rodrigues Cruvinel**, por toda ajuda e disponibilidade para resolver minhas dificuldades. Levarei em mente sempre os seus valiosos conselhos.

Ao **Raony Môlim**, pela simpatia e colaboração na execução da dissertação.

À Dona **Eva Ferreira Carvalho**, por ter me brindado sua amizade, carinho, apoio e, sobretudo me considerar uma filha. Meu carinho e eterna gratidão!

À querida **Maria Helena Abud e família**, pela receptividade, acolhimento e atenção, pelas deliciosas comidas e principalmente pelo carinho desde o primeiro dia que nos conhecemos.

Às minhas queridas amigas **Carlita e Antuanett**, pelo convívio saudável e pela grande amizade que fizemos.

Aos meus “irmãos” estrangeiros: **Martha, Rodrigo, Harry, Mario, Gaby, Lika, Kelly, Angelita e Carmen**, os nossos objetivos permitiu-nos encontrar em Ribeirão Preto, agradeço pelos momentos maravilhosos e aventuras no Brasil, obrigada por me proporcionarem aprender novas culturas, sotaques, sabores e, sobretudo por esse verdadeiro companheirismo. Considero cada um de vocês minha família.

Às minhas eternas amigas que deixei no Perú, **Yelenin e Diana**, a distância só provou a nossa verdadeira amizade.

Aos pequenos **Julian e Santiago**, meus sobrinhos, sua inocência e ternura enaltecem a minha vida. Amo vocês!

A **toda minha Família** que desde o Perú estão sempre torcendo por mim, estar longe de casa me fez valorizar e amar mais cada um de vocês.

Ao meu país, **Perú**, que possibilitou minha formação acadêmica e alberga meus maiores tesouros: minha família e amigos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

“Não é o desafio que define quem somos nem o que somos capazes de fazer. O que nos define é o modo de enfrentar esse desafio: podemos deitar fogo às ruínas, ou construir um caminho através delas, passo a passo rumo à liberdade”.

Richard Bach

RESUMO

PINTADO-PALOMINO, K. **Avaliação de agentes remineralizadores e dessensibilizantes no tratamento de clareamento dental: estudo *in vitro***. 2013. 79 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

O objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente, *in vitro*, o efeito de agentes remineralizadores e dessensibilizantes na rugosidade superficial e microdureza do esmalte e dentina bovina exposta a peróxido de carbamida a 16% (T1) ou peróxido de hidrogênio a 35% (T2). Os agentes clareadores T1 e T2 conjuntamente com os agentes remineralizadores/dessensibilizantes - dentifrício Sensodyne® (D1); dentifrício experimental com 7,5% de micro-partículas de Biosilicato® (D2); dentifrício Odontis RX® (D3); dentifrício Sorriso® (D4); pasta experimental com micropartículas de Biosilicato® (D5); Desensebilize Nano P® (D6); pasta experimental com micropartículas de Bioglass® tipo 45S5 (D7); água destilada (GC) - foram usados de acordo com os grupos experimentais (n=10). Análise de rugosidade superficial (Ra), microdureza e imagens em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas antes (t0) e após (t1) o tratamento com os géis clareadores (T1= 14 dias/ 4h por dia; T2= sessão única) e os produtos remineralizadores/dessensibilizantes. Os dados colhidos foram analisados intra e intergrupos, estatisticamente por meio de Análise de Variância e Teste de Tukey. Os resultados mostraram que na rugosidade superficial não houve diferença significativa ($p>0.05$) entre a rugosidade inicial (t0) e final (t1) tanto no esmalte quanto na dentina. A microdureza diminuiu nas amostras de dentina para o grupo T1/D6 (t0=40,99/ t1=29,11) e foi aumentada nas amostras de esmalte do grupo T1/D1 (t0=255,0/ t1=318,1). Conclui-se que o tratamento com peróxido de carbamida a 16% ou peróxido de hidrogênio a 35% associado aos agentes dessensibilizante/remineralizantes avaliados neste estudo não alteraram a rugosidade superficial do esmalte e dentina bovina, no entanto a microdureza dentinária pode ser alterada quando o peróxido de carbamida a 16% é usado.

Palavras chave: Agentes clareadores, agentes dessensibilizantes, rugosidade superficial, microdureza.

ABSTRACT

Pintado-Palomino, K. **Evaluating remineralizing and desensitizing agents in dental bleaching treatment: *in vitro* study.** 2013. 79 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

This study aimed to evaluate *in vitro* the effect of remineralizing and desensitizing agents on microhardness (MH) and roughness (RG) enamel and dentin bovine samples exposed to 16% carbamide peroxide (T1) or 35% hydrogen peroxide (T2). Dental bleaching agents - T1 and T2 - together with desensitizing/ remineralizing agents - Sensodyne® dentifrice (D1); experimental dentifrice containing 7,5% micron-sized particles of Biosilicate® (D2); Odontis RX® dentifrice (D3); Sorriso® dentifrice (D4); micro-sized particles of Biosilicate® paste (D5); Dessensebilize Nano P® (D6); Bioglass® type 45S5 paste (D7); distilled water (CG) – were used according to the experimental groups (n=10). MH, RG measurements, and images using scanning electron microscopy (SEM) were made on the samples before (t0) and after (t1) the treatment with the bleaching gels (T1= 14 days/ 04 hours/day; T2=single session) and the desensitizing/remineralizing agents. Data was analyzed statistically with One way-ANOVA and posterior Tukey Test. RG evaluation revealed no significant difference ($p>0.05$) between baseline (t0) and final (t1) RG for all experimental groups. MH decreased in dentine samples for T1/D6 (t0=40,99/ t1=29,11) and increased in enamel samples for T1/D1 (t0=255,0/ t1=318,1). It was concluded that the treatment with carbamide peroxide at 16% or hydrogen peroxide at 35% in combination with desensitizing/ remineralizing agents didn't alter enamel and dentin surface roughness; however microhardness could be affected when peroxide carbamide at 16 % is used.

Key words: dental bleaching agents, desensitizing agents, surface roughness, microhardness.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Agentes clareadores	38
Figura 2 – Agentes remineralizadores / dessensibilizantes	38
Figura 3 – Preparo das amostras	41
Figura 4 – Rugosímetro. Ponta do aparelho sobre a superfície da amostra	43
Figura 5 – Microdurômetro	43
Figura 6 – Análise de microdureza na superfície da amostra	43
Figura 7 – Microscópio Eletrônico de Varredura	44
Figura 8 – Dessecador a vácuo	45
Figura 9 – Amostras recobertas com a camada de ouro	45
Figura 10 – Aplicação Peróxido de Carbamida 16%. Whiteness Perfect [®] (T1)	49
Figura 11 – Aplicação Peróxido de Hidrogênio 35%. Whiteness HP [®] (T2).....	49
Figura 12 – Tratamento das amostras com os agentes dessensibilizantes/remineralizadores D1, D2, D3 e D4	49
Figura 13 – Tratamento das amostras com os agentes dessensibilizantes/remineralizadores D5, D6, D7.....	49
Figura 14 – Fluxograma do estudo	50
Figura 15– Gráfico ilustrando as médias dos valores obtidos nos testes de rugosidade superficial de esmalte e dentina bovina para cada grupo experimental e para cada tempo de avaliação	54
Figura 16 – Gráfico ilustrando as médias dos valores obtidos nos testes de microdureza de esmalte e dentina bovina para cada grupo experimental e para cada tempo de avaliação	57
Figura 17 – Amostras de esmalte e dentina bovina analisados em MEV	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos avaliados, composição ativa, fabricante.....	37
Tabela 2 - Valores das médias e desvio padrão da rugosidade superficial (Ra) do esmalte e dentina antes e depois da aplicação dos agentes dessensibilizantes quando clareados com peróxido de carbamida a 16%	53
Tabela 3 – Valores das médias e desvio padrão da rugosidade superficial (Ra) do esmalte e dentina antes e depois da aplicação dos agentes dessensibilizantes quando clareados com peróxido de hidrogênio a 35%	54
Tabela 4 – Valores de microdureza e desvio padrão do esmalte e dentina ante e depois da aplicação dos produtos dessensibilizantes quando clareados com peróxido de carbamida a 16%.....	56
Tabela 5 – Valores de microdureza e desvio padrão do esmalte e dentina antes e depois da aplicação dos produtos dessensibilizantes quando clareados com peróxido de hidrogênio a 35%	56
Tabela 6 – Matéria prima, fabricante e ação dos componentes do dentifrício experimental ...	79

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Clareamento em dentes vitais	22
2.1.1 Histórico do clareamento dental	22
2.1.2 Mecanismo de ação.....	23
2.1.3 Técnicas de clareamento em dentes vitais	24
2.1.4 Alterações morfológicas na estrutura dental por clareamento dental	25
2.1.5 Hipersensibilidade dentinária	28
2.2 Agentes dessensibilizantes no clareamento dental	30
2.2.1 Fluoretos	30
2.2.2 Nitrato de potássio	31
2.2.3 Vitrocerâmicas bioativas	31
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MATERIAL E MÉTODO	37
4.1 MATERIAL	37
4.2 MÉTODO.....	39
4.2.1 Planejamento experimental.....	39
4.2.2 Preparo das amostras de esmalte e dentina	40
4.2.3 Preparo das micropartículas de biosilicato e biovidro tipo 45S5.....	41
4.2.4 Preparo do dentifricio experimental.....	42
4.2.5 Realização das análises	42
4.2.5.1 Rugosidade Superficial	42
4.2.5.2 Microdureza	43
4.2.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	44
4.2.6 Aplicação dos agentes clareadores e dessensibilizantes nas amostras.....	45

4.2.6.1 Tratamento clareador com peróxido de carbamida a 16%: T1	45
4.2.6.2 Tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 35%: T2	47
4.3 Análise Estatística	51
5 RESULTADOS	53
5.1 Rugosidade superficial	53
5.2 Microdureza	55
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	57
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÕES.....	70
REFERÊNCIAS	72
ANEXOS	79

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

Se por um lado, dentes escurecidos ou manchados desfavorecem a estética do sorriso, por outro, dentes claros estão associados aos conceitos de beleza. Nos últimos anos, o clareamento dental tem ganhado popularidade e se tornado um dos procedimentos mais requisitados no consultório odontológico.

De acordo com alguns autores (ABOUASSI; WOLKEWITZ; HAHN, 2011; COBANKARA et al., 2004; HEYMANN, 2005; SULIEMAN et al., 2004), o clareamento dental é um tratamento seguro e minimamente invasivo para devolver a coloração natural dos dentes escurecidos ou para clarear aqueles dentes naturalmente escuros, comparado com outros tratamentos restauradores como facetas e coroas com materiais diretos ou indiretos, assim o clareamento dental tem mostrando um alto índice de sucesso (RITTER et al., 2002).

Diferentes métodos são empregados para clareamento em dentes vitais, dentre as duas técnicas mais preconizadas estão o clareamento de consultório (quando é realizado no consultório) e clareamento caseiro (quando o próprio paciente aplica o produto no ambiente doméstico). Independente do tipo de técnica, ambos são baseados em agentes oxidantes conhecidos como peróxidos, geralmente peróxido de hidrogênio ou carbamida aplicado em diferentes concentrações. A eficácia de ambas as técnicas são relatadas em estudos clínicos (BERNARDON et al., 2010; MEDEIROS; DE LIMA, 2008).

Apesar do benefício estético do clareamento dental, efeitos colaterais são relatados na literatura (MARKOWITZ, 2010), dentre eles, hipersensibilidade dentinária (HD) (DAHL; PALLESEN, 2003; FDI, 2013; GOLDBERG; GROOTVELD; LYNCH, 2010; KIHN, 2007; TREDWIN et al., 2006) e alterações estruturais na superfície dos tecidos mineralizados, como diminuição da microdureza (BORGES et al., 2009; BORGES et al., 2010; ZANET; FAVA; ALVES, 2011; ZANTNER et al., 2007) e aumento da rugosidade superficial (AZRAK et al.,

2010; FARAONI-ROMANO et al., 2008; MARKOVIC et al., 2007; SA et al., 2012). Na tentativa de minimizar os efeitos adversos do clareamento dental, a aplicação de agentes dessensibilizantes e remineralizadores na superfície do esmalte e dentina é indicada durante e após o tratamento clareador (CHEN et al., 2008; COSTA; MAZUR, 2007).

Durante o processo de clareamento dental, a exposição dos túbulos dentinários pode acontecer principalmente devido a erosão dental e recessão gengival, decorrente das propriedades químicas dos peróxidos usados no procedimento. A literatura relata que a HD vem ficando mais prevalente mundialmente, especialmente na população jovem, e um dos fatores relacionados é o aumento do uso de agentes de clareamento dental (SYKES et al., 2007).

Diante de tal quadro, o tratamento para a HD consiste no uso de produtos que visam: i) a inibição da propagação do estímulo doloroso por meio de produtos que contém sais de potássio na formulação; ii) a oclusão dos túbulos dentinários através de agentes remineralizadores, materiais restauradores e uso de lasers (MARKOVITZ; PASHLEY, 2008; OCHARDSON; GILLAM, 2006).

Embora haja uma grande quantidade de estudos sobre o assunto, a literatura é controversa em relação aos efeitos colaterais dos agentes clareadores. Provavelmente, a exposição ao clareamento dental, tanto caseiro quanto realizado em consultório dental, deverá continuar acontecendo ao longo dos próximos anos, uma vez que a demanda estética da população parece ser crescente. Nesse sentido, é importante prover métodos e materiais para que o procedimento possa ser executado, cada vez mais, de maneira segura e confortável para o paciente. Desta maneira, a busca por agentes dessensibilizantes e/ou remineralizantes para serem usados concomitantemente ao uso dos peróxidos, que sejam capazes de ocluir os túbulos dentinários e remineralizar a superfície do esmalte e dentina de maneira rápida, não invasiva e duradora é um desafio para os pesquisadores da área.

Considerando a necessidade de novos materiais dessensibilizantes e/ou remineralizantes uma nova vitrocerâmica bioativa, totalmente cristalina, denominada Biosilicato[®] vem sendo proposta como agente dessensibilizante e/ou remineralizante uma vez que estudos *in vitro* comprovaram a sua bioatividade (MOURA et al, 2004; RORIZ et al 2009), sua eficiência na remineralização do tecido dental mineralizado através da indução de formação de hidroxicarbonoapatita (HCA) nos túbulos dentinários da dentina (TIRAPELLI et al., 2010) e um estudo clínico mostrou rápida redução da hipersensibilidade dentinária frente a outros agentes dessensibilizantes comerciais disponíveis no mercado (TIRAPELLI et al., 2011).

Considerando os resultados iniciais referentes ao Biosilicato[®] e a demanda por agentes remineralizadores e dessensibilizantes mais eficientes, o objetivo desta pesquisa foi estudar novas formulações contendo Biosilicato[®] como agente dessensibilizante e remineralizador usado durante o tratamento de clareamento dental.

Desta forma, a hipótese deste estudo foi que formulações experimentais contendo Biosilicato[®] podem ser eficientes na rugosidade superficial e microdureza de amostras de esmalte e dentina dental após tratamento com peróxido de hidrogênio 35% e peróxido de carbamida a 16 %.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Clareamento dental em dentes vitais

2.1.1 Histórico do clareamento dental

O clareamento dental tem sido um procedimento realizado durante mais de um século. Em 1937, já se recomendavam técnicas de clareamento em dentes vitais, com o peróxido de hidrogênio associado a uma fonte de calor com um instrumento aquecido ou fonte luminosa para tratar esmalte dental manchado. Similares técnicas usando concentrações de peróxido de hidrogênio com fonte luminosa tem sido um tratamento aceito desde 1930. Em 1966 o uso combinado de ácido hidrocloreídrico e peróxido de hidrogênio foi recomendado para remoção de manchas marrons. Em 1970 foi documentado o método para clareamento de dentes manchados por tetraciclina em pacientes tratados de fibrose cística. Durante todos esses anos houve a evolução das técnicas até o surgimento da técnica do clareamento caseiro ou supervisionado, originalmente chamado de *“nightguard vital bleaching”* publicada por Haywood e Heymann (1989) com a utilização de peróxido de carbamida a 10%. O tratamento surgiu devido às observações de um ortodontista, que prescreveu a seus pacientes com gengivites um antisséptico bucal contendo 10% de peróxido de carbamida para ser usado durante a noite dentro de um dispositivo ortodôntico, além de observar a redução do quadro inflamatório também foi verificado o clareamento dental.

Essa técnica foi um marco na odontologia cosmética, desde então, inúmeros produtos e técnicas vem sendo estudados e desenvolvidos. No entanto, o modo de ação do clareamento dental continua sendo o mesmo ao longo das décadas, que é a oxidação de pigmentos orgânicos através de produtos de decomposição do agente clareador (HEYMANN, 2005).

2.1.2 Mecanismo de ação

No clareamento em dentes vitais existem basicamente dois produtos: peróxido de hidrogênio e o peróxido de carbamida, onde o oxigênio é o agente ativo em todas as reações (HIRATA, 2011).

- *Peróxido de hidrogênio*

Quando em contato com a saliva e a estrutura dental, age como um forte agente oxidante, podendo formar radicais livres altamente instáveis (hidroxil, per-hidroxil), moléculas de oxigênio reativas e ânions de peróxido de hidrogênio, dependendo das características da reação (DAHL; PALLESEN, 2003). Estas moléculas possuem baixo peso molecular e são capazes de penetrar no esmalte relativamente impermeável e interagem na dentina subjacente com os pigmentos escuros, também chamados de cromóforos, responsáveis pelo manchamento dental (GOLDBERG; GROOTVELD; LYNCH, 2010). Os cromóforos são moléculas constituídas por cadeias orgânicas longas, com muitas ligações insaturadas, anéis aromáticos e alto índice de absorção de luz, que fazem com que absorvam a luz emitida sobre o dente e confirmam a ele uma cor mais escurecida. Os radicais livres dos peróxidos atacam as moléculas orgânicas quebrando as cadeias longas dos pigmentos escuros, tornando menores os cromóforos que serão liberados do interior da estrutura dentária por difusão. Com a diminuição das cadeias moleculares longas no interior do dente, aumenta a taxa de reflexão de luz emitida sobre este, criando um efeito de clareamento (DAHL; PALLESEN, 2003; JOINER, 2006; KINH, 2007).

- *Peróxido de carbamida*

Quando em contato com a água, libera peróxido de hidrogênio e ureia, a qual é rapidamente decomposta em dióxido de carbono e amônia. Ainda não se sabe ao certo a quantidade de

amônia que é formada durante o clareamento dental, mas sabe-se que, devido a sua alcalinidade, possui a capacidade de aumentar o pH do meio e facilitar o processo do clareamento. Isto pode ser explicado pelo fato de que, em soluções básicas, uma menor energia de ativação é requerida para a formação de radicais livres do peróxido de hidrogênio necessários para o clareamento. Isso faz com que a taxa de reação seja maior e os resultados sejam melhores quando comparados ao ambiente ácido, que normalmente resulta na formação de radicais livres fracos, com menores poderes clareadores (DAHL; PALLESEN, 2003).

2.1.3 Técnicas de clareamento em dentes vitais

Diferentes métodos e técnicas para clareamento em dentes vitais têm sido descritos na literatura. Existem técnicas que usam diferentes agentes clareadores, concentrações, número de aplicações, métodos de ativação com luz (HIRATA, 2011; KHIN, 2007; ONTIVEROS, 2011). No entanto, atualmente são disponíveis dois tipos de abordagens para o clareamento dental para tratar os dentes vitais sob supervisão profissional: (1) Clareamento caseiro supervisionado pelo cirurgião dentista; (2) Clareamento de consultório. Na atualidade as formulações comumente utilizadas pelos profissionais contém peróxido de hidrogênio ou peróxido de carbamida. Nos últimos anos tem-se introduzido o clareamento chamado de *over-the-counter* amplamente distribuído ao público geral (FDI, 2013).

O clareamento dental caseiro consiste na aplicação principalmente de peróxido de carbamida em forma de gel à base de glicerina (MARKOWITZ, 2010) com concentrações relativamente baixas (5-22%). O gel clareador é aplicado nos dentes através de moldeiras individualizadas por várias horas. Já o clareamento dental de consultório geralmente usa concentrações maiores de peróxido de hidrogênio (30-38%) ou de peróxido de carbamida (30-37%) com ou sem o uso de uma fonte de luminosa. Devido à elevada natureza cáustica das

altas concentrações do gel clareador utilizado em consultório é realizada a proteção dos tecidos moles (afastadores bucais, protetores de língua, barreiras gengivais) previamente a sua aplicação (HIRATA, 2011).

Embora as pesquisas clínicas sugiram que o clareamento em dentes vitais é um procedimento relativamente seguro oferecendo satisfação ao paciente (BOUSHELL et al., 2012; MEIRELES et al., 2008; RITTER et al., 2002) existem controvérsias a respeito de sua segurança desde a introdução dos produtos de uso caseiro, e há relatos de efeitos adversos do clareamento em tecidos orais e materiais restauradores (DAHL; PALLESEN, 2003; GOLDBERG; GROOTVELD; LYNCH, 2010; LI, 2011).

2.1.4 Alterações morfológicas na estrutura dental por clareamento dental

Diferentes estudos têm mostrado alterações morfológicas, redução na microdureza, aumento na rugosidade e aumento na permeabilidade dos tecidos mineralizados.

Cobankara et al. (2004), avaliaram *in vitro* o efeito do peróxido de carbamida (10 e 15%) na rugosidade e morfologia do esmalte e da dentina humana. As amostras foram analisadas antes e 04 e 28 horas após o clareamento. Ambas as concentrações do peróxido de carbamida não mostraram diferenças estatisticamente significantes no esmalte e na dentina em nenhum tempo de avaliação; e imagens em MEV revelaram que os produtos clareadores testados não causaram alterações significantes no esmalte e na dentina, a não ser pequenas alterações pela remoção do *smear layer* e alargamento dos túbulos dentinários. Os autores concluíram que o clareamento caseiro é um tratamento seguro se usado com peróxido de carbamida a 10 ou 15%.

Zantner et al. (2007), estudaram *in vitro* a influência dos agentes clareadores de uso caseiro (peróxido de carbamida a 8%, peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio

a 5,9%) na microdureza do esmalte humano. O tratamento clareador foi realizado por 14 dias durante o qual as amostras foram imersas em saliva artificial. Após esse tempo foi realizado a avaliação da microdureza. De acordo com os resultados os autores concluíram que os agentes clareadores tanto à base peróxido de hidrogênio quanto de peróxido de carbamida tem uma influência significativa na diminuição ($p \leq 0.0005$) da microdureza do esmalte. No entanto, as imagens realizadas em MEV não revelaram alterações na superfície do esmalte.

Considerando a micromorfologia, no estudo realizado por Markovic et al. (2007) usando Microscópio de Varredura à laser (CLSM - confocal laser scanning microscope) mostraram nas amostras de esmalte humano, uma superfície lisa na região controle e um aumento da rugosidade superficial na região tratada por duas concentrações de peróxido de carbamida (10 e 16%) aplicadas por 4 horas diárias durante uma semana.

Faroni-Romano et al. (2008), avaliaram a microdureza e rugosidade do esmalte e da dentina radicular submetidos a diferentes concentrações de peróxido de carbamida (10%), peróxido de hidrogênio (7,5 e 38%) e a uma combinação de ambos (peróxido de hidrogênio a 18% / peróxido de carbamida a 22%) durante três semanas. Os resultados desse estudo mostraram alterações não significativas no esmalte, no entanto a dentina mostrou-se afetada com um aumento na rugosidade e redução na microdureza. Os autores concluíram que os agentes clareadores são capazes de causar perda mineral na dentina radicular.

Azrak et al. (2010), avaliaram o efeito dos agentes clareadores na rugosidade superficial do esmalte humano submetidos à erosão. Três produtos clareadores com diferentes concentrações (peróxido de hidrogênio a 7,5%, peróxido de hidrogênio a 13,5% e peróxido de carbamida a 35%) e diferentes valores de pH (10,8, 6,1 e 4,9) foram aplicados no esmalte não tratado ou previamente erodido (imerso em suco de maçã por 10 h) durante 10 h. A rugosidade superficial de todas as amostras foi avaliada por meio do perfilômetro óptico. Os resultados revelaram diferença estatisticamente significante quando aplicado o agente

clareador de maior concentração (peróxido de carbamida a 35%) contendo um pH ácido (4,9) ou peróxido de hidrogênio 13,5% e nas amostras previamente erodidas quando tratadas com peróxido de hidrogênio a 13,5%. Os autores concluíram que o uso de altas concentrações de peróxido ou um pH ácido pode aumentar os danos no esmalte sadio ou erodido.

De Souza Costa et al. (2010), avaliaram e compararam a resposta pulpar de incisivos e pré-molares inferiores humanos após clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% por 45 minutos. Os voluntários que clarearam os incisivos relataram sensibilidade pós-operatória. Após o tratamento clareador os dentes foram extraídos e submetidos à análise histológica. O grupo dos incisivos apresentou uma deposição da dentina reacionária, a qual mostrou uma resposta inflamatória moderada mediada por células mononucleares entre vasos sanguíneos congestionados e dilatados. Os autores apontaram que os componentes tóxicos liberados dos agentes clareadores foram capazes de se difundir no esmalte e na dentina causando dano na polpa. Eles concluíram que o clareamento dental com peróxido de hidrogênio a 38% causa danos irreversíveis na polpa em incisivos inferiores, porém não nos pré-molares atribuindo esta condição a uma maior espessura de esmalte e dentina presente nestes dentes.

No estudo *in vitro* Abouassi, Wolkewitz e Hahn (2011) encontraram pequenas alterações morfológicas na superfície do esmalte bovino quando exposto a duas concentrações diferentes de peróxido de carbamida (10 e 35%) e peróxido de hidrogênio (3,6 e 10%) por duas horas, a cada dois dias, durante duas semanas. Análise de rugosidade com perfilômetro ótico à laser e de microdureza Knoop foram realizadas. Apenas o grupo tratado com peróxido de hidrogênio a 10% mostrou alterações tanto na rugosidade superficial quanto na microdureza quando comparada ao grupo controle. No mesmo grupo, imagens em MEV mostraram depressões na superfície do esmalte. Os autores apontaram que tais efeitos são clinicamente irrelevantes, considerando o clareamento dental um procedimento minimamente invasivo e seguro.

Cakir et al. (2011), analisaram as alterações na composição química do esmalte e da dentina após a aplicação de três agentes clareadores de uso caseiro com diferentes concentrações de peróxido de carbamida (10, 20 e 35%). Os resultados mostraram que todos os agentes testados causaram alterações similares, com uma redução significativa nos níveis de cálcio e potássio no esmalte e de cálcio, fósforo e potássio na dentina. No entanto as imagens realizadas em MEV não revelaram efeitos deletérios nos tecidos avaliados.

No estudo *in vitro* e *in situ* Sa et al. (2012), avaliaram o efeito de dois agentes clareadores de uso de consultório (peróxido de hidrogênio a 35 e a 38%) e com valores de pH diferentes (7,5 e 4,03), respectivamente na microdureza e rugosidade superficial do esmalte humano. O clareamento foi realizado no primeiro e oitavo dia por um total de 90 minutos. A seguir, medidas de rugosidade superficial com o uso de Microscopia de Força Atômica e análise de Vickers para a microdureza foram realizadas. Os resultados indicaram que em condições *in vitro* os agentes clareadores com valores baixos de pH podem induzir a alterações na superfície do esmalte.

2.1.5 Hipersensibilidade dentinária

A respeito dos efeitos adversos do clareamento dental, o mais facilmente identificado pelo paciente é a HD que é, por definição, uma condição oral não patológica, em que há uma resposta dolorosa (intensa, rápida, de curta duração) dependente de estímulos (térmicos, mecânicos, osmóticos) aplicados na superfície de túbulos dentinários abertos, pertencentes a dentes vitais e com o tecido dentinário exposto ao ambiente bucal (CANADIAN ADVISORY BOARD ON DENTINE HYPERSENSITIVITY, 2003).

A respeito, estudos clínicos mostram que os pacientes reportam hipersensibilidade dentinária em algum momento do tratamento clareador (BROWING; CHO; DESCHEPPER,

2012; CHARAKORN et al, 2009; LEONARD et al., 2007; MEIRELES et al., 2008; REIS; KOSSATZ; MARTINS, 2013).

De acordo com Dahl e Pallensen (2003) a HD é um efeito colateral comum do clareamento dental observado em 15-78% dos pacientes. Os autores recomendam evitar o uso de concentrações maiores que 10% de peróxido de carbamida para clareamento em dentes vitais, já que o nível de segurança não é previsível com o uso de concentrações maiores.

Numa pesquisa clínica (BERNADON et al., 2010) que avaliou a sensibilidade dentinária de pacientes submetidos a diferentes técnicas de clareamento (clareamento de consultório, clareamento de consultório com ou sem luz e a combinação de clareamento de consultório e clareamento caseiro) os níveis mais altos de sensibilidade dentinária ocorreram com a técnica de consultório usando peróxido de hidrogênio a 35% (duas sessões de 45 minutos cada uma) imediatamente após o tratamento, quando comparados com a técnica caseira realizada com peróxido de carbamida a 10% (8 horas diárias por duas semanas), sendo que a sensibilidade foi similar com ou sem o uso da luz.

Reis, Kossatz e Martins (2013) compararam o efeito de duas concentrações de peróxido de hidrogênio (20 e 35%) na sensibilidade dentinária após duas sessões de clareamento de consultório. Ambos agentes clareadores mostraram similar intensidade de sensibilidade reportada pelos pacientes (16,7 – 26,7% de 60 pacientes), a qual é relativamente baixa. No entanto, os produtos testados no estudo contêm na composição gluconato de cálcio a 2% (agente remineralizante) o que pode ter interferido nos resultados.

O mecanismo que explica a HD durante o clareamento dental não tem sido estabelecido completamente (TREDWING et al., 2006), entretanto a HD está associada ao aumento da permeabilidade do esmalte e da dentina, facilitando a passagem dos peróxidos através destes tecidos. O estudo *in vivo* realizado por De Souza Costa et al. (2010) sugeriu que os componentes tóxicos liberados dos agentes clareadores são capazes de se difundir no

esmalte e na dentina causando dano na polpa a partir de análises histológicas feitas na polpa dos dentes (incisivos) clareados com peróxido de hidrogênio a 38% apresentaram necrose.

A teoria hidrodinâmica também tem sido usada para explicar a HD decorrente do clareamento dental. Esta teoria postula que a rápida movimentação dos fluidos nos túbulos dentinários provenientes da aplicação de um estímulo, resulta na ativação dos nervos sensoriais da polpa ou da dentina, tais estímulos podem ativar os nociceptores que inervam os túbulos dentinários levando à percepção da dor. Portanto, os tratamentos para HD se baseiam no impedimento da movimentação do fluido no interior dos túbulos dentinários ou no bloqueio neural dos mecano-receptores, ou de ambos simultaneamente (CANADIAN ADVISORY BOARD IN DENTIN HIPERSENSITIVITY, 2003). Baseados nestes princípios, diferentes agentes dessensibilizantes são utilizados na tentativa de reduzir a HD no clareamento dental e recentemente o uso de biomateriais tem sido introduzido com a mesma finalidade.

2.2 Agentes dessensibilizantes no clareamento dental

2.2.1 Fluoretos

O modo de ação do flúor baseia-se na obliteração dos túbulos dentinários. A ação do flúor sobre a superfície dentária é dada pela sua união dos íons flúor com os íons cálcio, resultando em fluoretos de cálcio que reduzem o diâmetro dos túbulos. Acredita-se que a eficácia de flúor é potencializada pelos agentes clareadores uma vez que as proteínas aderidas aos cristais do esmalte são removidas pelos agentes clareadores. O íon fluoreto reativo interage com os cristais limpos, aumentando o potencial da remineralização. Assim o benefício do uso de flúor nos produtos clareadores inclui a redução da solubilidade do esmalte

devido à deposição dos cristais de hidroxiapatita reduzindo a HD (GLADWELL; SIMMONS; WRIGHT, 2006). A esse respeito, Borges et al. (2009) analisaram o efeito remineralizador do cálcio e flúor em um agente clareador contendo 35% de peróxido de hidrogênio. Os resultados obtidos mostraram que o grupo onde o peróxido de hidrogênio contendo cálcio e flúor foi usado mostrou um aumento na microdureza do esmalte após 30 minutos de clareamento.

2.2.2 Nitrato de Potássio

O nitrato de potássio é comumente utilizado como agente dessensibilizante nas formulações de dentifrícios. Os íons K^+ atravessam a estrutura dentária de forma similar ao peróxido por meio de difusão (MARKOWITZ, 2010) e tem como potencial despolarizar a membrana da ativação neural e impedir a propagação do estímulo doloroso. A pesquisa clínica realizada por Tay et al. (2009) mostrou que o uso de nitrato de potássio a 5% antes dos clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% reduz a HD sem afetar a eficácia do clareamento dental.

2.2.3 Vitrocerâmicas Bioativas

A utilização clínica das vitrocerâmicas bioativas surgiu a partir do trabalho pioneiro de Larry Hench na década de 60, com o desenvolvimento de Bioglass® 45S5 (HENCH, 2006). A principal característica deste material biocompatível é sua capacidade de promover uma rápida e durável ligação química por meio de uma interface de apatita como o tecido ósseo, o que lhe valeu a designação de material bioativo (DAGUANO, 2011). A composição básica deste material é 45% SiO_2 ; 24,5% CaO ; 24,5% Na_2O e 6% P_2O_5 .

Devido à similaridade de composição entre osso, dentina e esmalte, as vitro-cerâmicas bioativas vêm sendo propostas como agentes terapêuticos na regeneração dos tecidos dentais mineralizados. Ao pesquisar a interação entre os vidros bioativos e dentina humana, Efflandt et al. (2002) demonstraram através de análise química que os íons do vidro são capazes de penetrar a dentina e análise por microdiafractometria mostrou a presença de apatita na interface dentina/vidro. De acordo com os autores esta adesão deve-se a afinidade do colágeno pela superfície vítrea e a interação química com o vidro permitindo formação de apatita nesta interface.

Zanotto et al. (2004) desenvolveram uma vitro-cerâmica quaternária bioativa P_2O_5 - Na_2O - CaO - SiO_2 totalmente cristalina (99,5%) denominada Biosilicato®. A bioatividade comprovada nos estudos realizados por Moura et al. (2007) e Roriz et al. (2010) associada à característica cristalina do Biosilicato sugeriu sua aplicação na hipersensibilidade dentinária. Tirapelli et al. (2010) avaliaram *in vitro* o efeito das partículas de Biosilicato® na obliteração dos túbulos dentinários. Por meio de espectroscopia por infravermelho, o estudo mostrou que as partículas de Biosilicato® podem levar à deposição de HCA sobre a superfície da dentina imersa em saliva artificial, após 30 minutos de reação. Os autores sugeriram que este material pode ser uma nova opção no tratamento da HD.

Em um estudo subsequente, Tirapelli et al. (2011) avaliaram clinicamente a efetividade do Biosilicato® como agente dessensibilizante na HD. As formulações experimentais contendo este produto foram comparadas com agentes dessensibilizantes disponíveis no mercado para o tratamento de pacientes com HD devido a variadas causas (recessão gengival, abfração, erosão, dieta ácida, entre outras). Comparativamente, o Biosilicato® misturado à água destilada apresentou o melhor e mais rápido desempenho na redução da HD, seguido pelo Sensi Kill®, Sensodyne® e Biosilicato® misturado a um gel.

Recentemente o uso de materiais bioativos vem sendo pesquisados como agentes dessensibilizantes no clareamento dental já que se acredita serem capazes de reduzir a HD pela obliteração dos túbulos e a formação de cristais de hidroxiapatita (MATIS et al., 2007).

No estudo realizado por Pinheiro et al. (2010) usando microscópio eletrônico de varredura de efeito de campo, conclui-se que o uso de materiais bioativos tais como fosfato de cálcio amorfo e Biosilicato® após tratamento clareador com peróxido de carbamida a 16% pode reduzir ou evitar a desmineralização causada pelo clareamento. As imagens mostraram que estes materiais foram capazes de reduzir a abertura dos túbulos dentinários expostos pelo agente clareador, promovendo a remineralização.

Gjorgievska e Nicholson (2011) pesquisaram o uso de dentifrícios contendo vidro bioativo na prevenção da desmineralização do esmalte após clareamento. O estudo mostrou que a aplicação de peróxido de carbamida a 16% no esmalte humano por oito minutos diários durante uma semana provocou diferentes alterações morfológicas. As imagens por MEV mostraram uma superfície de esmalte mais porosa com depressões e irregularidades. Já o tratamento subsequente com dentifrício contendo vidro bioativo resultou no reparo do esmalte com partículas de biovidro depositadas nas irregularidades, confirmada pela análise de espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDX).

Cunha et al., (2012) observaram alterações superficiais no esmalte após o uso de agentes clareadores de consultório (peróxido de hidrogênio 35% e carbamida a 37%). No entanto, o uso de uma pasta de fosfato de cálcio amorfo antes e após o clareamento foi capaz de prevenir o dano sem que a eficácia do clareamento seja afetada quando associada ao peróxido de hidrogênio a 35%.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente *in vitro*, o efeito de agentes dessensibilizantes / remineralizadores conjuntamente com os agentes clareadores, peróxido de carbamida a 16% e peróxido de hidrogênio a 35% usados.

Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a rugosidade superficial e microdureza do esmalte e da dentina antes e após a aplicação de agentes clareadores.
- ✓ Avaliar a rugosidade superficial do esmalte e da dentina antes e após a aplicação de agentes clareadores e diferentes agentes dessensibilizantes / remineralizadores.
- ✓ Avaliar a microdureza do esmalte e da dentina antes e após a aplicação de agentes clareadores e diferentes agentes dessensibilizantes / remineralizadores.
- ✓ Avaliar comparativamente, *in vitro*, o efeito de novas formulações experimentais contendo Biosilicato[®], na rugosidade superficial e na microdureza de amostras de esmalte e dentina submetidos ao tratamento com peróxido de hidrogênio a 35% e peróxido de carbamida a 16%.

4 Material e Método

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 MATERIAL

Na realização deste estudo foram utilizados os materiais descritos na Tabela 1 e apresentados na figura 1(A-B) e 2 (A-G).

Tabela 1 – Produtos avaliados, composição ativa, fabricante.

Materiais	Siglas	Composição ativa	Fabricante
Whitniss Perfect [®]	T1	Peróxido de carbamida 16%	FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil.
Whitniss HP [®]	T2	Peróxido de hidrogênio 35%	FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil.
Dentifrício Sensodyne [®]	D1	Nitrato de potássio 5% e 1187 ppm de MFP	GSK, Glaxo Smith Kline, Brasil.
Dentifrício experimental contendo 7,5% de micro-partículas de Biosilicato [®]	D2	Partículas de vitro-cerâmica bioativa cristalina (1-10µm) P ₂ O ₅ -Na ₂ O-CaO-SiO ₂	Micro-partículas de Biosilicato [®] : Vitrovita, São Carlos, SP, Brasil. Dentifrício: Laboratório de formulações HELP (Ribeirão Preto, SP, Brasil).
Dentifrício Odontis RX [®] Sensi block	D3	Fosfosilicato de cálcio e sódio	Daut Laboratories, Brasil
Dentifrício Sorisso [®]	D4	1500ppm de MFP	Colgate [®] do Brasil
Pasta 1:1 (Biosilicato [®] e água destilada)	D5	Partículas de vitro-cerâmica bioativa cristalina (1-10µm) P ₂ O ₅ -Na ₂ O-CaO-SiO ₂	Micro-partículas de Biosilicato [®] : Vitrovita, São Carlos, SP, Brasil.
Desensibilize Nano P [®]	D6	Nano hidroxiapatita em pasta	FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil.
Pasta 1:1 (Bioglass 45S5 [®] e água destilada)	D7	Partículas de biovidro bioativo (1-10µm) P ₂ O ₅ -Na ₂ O-CaO-SiO ₂	Micro-partículas de biovidro tipo 45S5: Vitrovita, São Carlos, SP, Brasil.
Grupo controle- água destilada	GC		----- -----

Figura 1 - Agentes clareadores.

Figuras 2 - Agentes remineralizadores / dessensibilizantes.

4.2 MÉTODO

4.2.1 Planejamento experimental

As variáveis avaliadas neste estudo *in vitro* foram: a rugosidade superficial e a microdureza. Os fatores de variação em estudo foram tratamento clareador e tratamento remineralizador / dessensibilizante, que estão descritos como seus respectivos níveis a seguir:

A. Fator tratamento clareador – Agentes clareadores com dois níveis:

T1- Whiteness Perfect[®] (peróxido de carbamida a 16%)

T2- Whiteness HP[®] (peróxido de hidrogênio a 35%)

B. Fator tratamento dessensibilizante/remineralizador – Agentes remineralizadores / dessensibilizantes com oito níveis:

D1- Dentifrício Sensodyne[®]

D2- Dentifrício experimental contendo 7,5% de micro-partículas de Biosilicato[®]

D3- Dentifrício Odontis RX[®] Sensiblock

D4- Dentifrício Sorisso[®]

D5- Pasta 1:1 (Biosilicato[®] e água destilada)

D6- Desensebilize Nano P[®]

D7- Pasta 1:1 (Bioglass 45S5[®] e água destilada)

D8- Grupo Controle

Considerando os fatores de variação, teremos os seguintes grupos experimentais: T1/D1; T1/D2; T1/D3; T1/D4; T1/D5; T1/D6; T1/D7; T1/GC e T2/D1; T2/D2; T2/D3; T2/D4; T2/D5; T2/D6; T2/D7; T2/GC. Sendo assim, este estudo *in vitro* contou com 16 grupos experimentais para cada substrato (esmalte e dentina). Para a variável Rugosidade Superficial (Ra) e Microdureza, foi utilizado o fator vinculado Tempo de análise, sendo:

T₀- Após confecção das amostras (baseline).

T₁- Após tratamento clareador e subsequente aplicação dos agentes dessensibilizantes.

4.2.2 Preparo das amostras de esmalte e dentina

Para os 16 grupos experimentais foram confeccionados 160 amostras de esmalte e 160 amostras de dentina a partir de dentes incisivos bovinos, recém-extraídos e sem presença de cárie, trincas ou fraturas, limpos com auxílio de cureta periodontal e armazenados em solução salina por uma semana. Após este período, com o uso de um disco diamantado dupla face de 22 mm (KG Sorensen[®], Brasil), montado em motor de baixa rotação (Dabi Atlante[®], Brasil) as coroas foram separadas das raízes e a partir das coroas dentais foram obtidos blocos de esmalte de 4mmx4mmx3mm e da porção mais cervical da raiz foram obtidos blocos de dentina de 4mmx4mmx3mm.

O tamanho e espessura dos blocos de esmalte e dentina foram aferidos por meio de micrômetro (Mitutoyo[®] - Pocket Gage, Japão). Para garantir o suporte das amostras nos ensaios de rugosidade superficial e microdureza os blocos de esmalte e dentina foram embutidos em uma matriz de teflon de 10 mm de diâmetro e 5mm de profundidade com resina acrílica auto polimerizável.

A seguir, as amostras (de esmalte e dentina) foram polidas com lixas de granulação 200, 500, 600, 800 e 1200 sob irrigação com água, em politriz manual (Struers[®] / Denmark) para ficarem com as superfícies planas e tamanho padronizado. Após a confecção, as amostras foram armazenadas em recipientes individuais contendo 10 ml de água destilada, as quais foram numeradas aleatoriamente de 1 a 160 (amostras de esmalte e dentina) para garantir que a mesma amostra seja medida antes e depois dos ensaios previstos (Figura 3A–3F). Todas as amostras utilizadas neste estudo foram confeccionadas de acordo com esta metodologia. As 160 amostras de esmalte e as 160 amostras de dentina foram divididas em 16 grupos experimentais (n=10 por grupo), os quais foram submetidos às análises de rugosidade e microdureza antes e depois da aplicação do gel clareador e agentes remineralizadores.

Figura 3.- Preparo das amostras.

4.2.3 Preparo das micro-partículas de biosilicato e biovidro tipo 45S5

A produção das micro-partículas bioativas foi realizada pelo Instituto de Inovação em Vitro-cerâmicas (Vitrovita, São Carlos, SP, Brasil) de acordo com o processo de preparação descrito no depósito de patente (ZANOTTO et al., 2004).

Este processo envolveu:

- Pesagem das matérias-primas em balança analítica de alta precisão.
- Mistura e homogeneização das matérias-primas em um misturador planetário.
- Fusão da mistura em um cadinho de platina em forno elétrico.
- Obtenção de placas vítreas a partir do material fundido.

- e) Tratamento térmico das placas vítreas em uma mufla para promoção da cristalização e obtenção de um material isento de fase vítrea.
- f) Moagem do material cristalino em um moinho planetário utilizando-se jarro e meios de moagem de ágata.
- g) Separação do material particulado obtido.

Para isto foram utilizadas matérias-primas de elevada pureza (pureza analítica), livre de metais pesados e substâncias tóxicas. A produção foi realizada em ambiente limpo, utilizando equipamentos previamente limpos e assépticos. Após a produção os biomateriais foram esterilizados em calor seco a temperatura de 350 ° C por 1 hora e embalado em embalagens assépticas.

4.2.4 Preparo do dentifrício experimental

O dentifrício experimental contendo Biosilicato[®] foi desenvolvido e preparado pelo HELP Laboratório (Ribeirão Preto, SP, Brasil) que usou na formulação as matérias primas descritas no ANEXO A.

4.2.5 Realização das análises iniciais

4.2.5.1 Rugosidade Superficial

Inicialmente, foi feita a análise de Rugosidade Superficial; aferida em Rugosímetro Mitutoyo (SJ-201P, Japão), com cut-off mínimo previsto para 0.8mm, o qual foi previamente estabelecido e calibrado no aparelho. As amostras foram fixadas por meio de uma fita adesiva colocada entre a base da amostra e mesa do rugosímetro, evitando assim que a amostra possa ser deslocada durante a leitura da rugosidade superficial, por eventuais trepidações (Figura 4). Foram realizadas três leituras para cada amostra, em locais diferentes

e distantes aproximadamente 0,5mm da superfície das 160 amostras de esmalte e das 160 amostras de dentina. Após as três leituras, o próprio programa do rugosímetro forneceu a média dos valores de rugosidade de superfície. Desta forma, foram obtidos os valores da rugosidade média (Ra) das amostras.

Figura 4- Rugosímetro. Ponta do aparelho sobre a superfície da amostra.

4.2.5.2 Microdureza

Sequentemente, foram feitas as análises de microdureza usando-se uma ponta do tipo Knoop (Shimatzu HMV 2000, Kyoto, Japan) (Figura 5) com uma carga de 1N aplicada por 30 segundos, de acordo com metodologia descrita por Zantner et al. (2007). As indentações foram realizadas com a haste do equipamento posicionada perpendicularmente à superfície das amostras (Figura 6). Para obter uma média de referência, as medidas foram feitas em três pontos distintos e distantes (aproximadamente 0,5mm), em cada uma das 160 amostras de esmalte e das 160 amostras de dentina.

Figura 5-Microdurômetro.

Figura 6 - Análise de microdureza na superfície da amostra.

4.2.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

A fim de observar qualitativamente a superfície de esmalte e dentina, uma amostra representativa de cada grupo experimental foi avaliada em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss, EVO® 50, Cambridge Instruments Co.,UK) (Figura 7) no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Química de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, antes e após a aplicação dos agentes clareadores e dos agentes dessensibilizantes.

Imediatamente após o preparo das amostras, elas foram secas em estufa a 37°C e depois armazenadas em dessecador (Figura 8). Em seguida as amostras foram posicionadas no porta amostra do MEV (*stub*) e conectadas com fita de carbono. Foi aplicada na superfície das amostras analisadas uma camada condutora de ouro evaporado a vácuo (Figura 9). A fim de detectar diferenças qualitativas entre as amostras foram realizadas leituras dessas mesmas sob aumento de 200, 2000 e 5000x.

Figura 7- Microscópio Eletrônico de Varredura.

Figura 8 - Dessecador a vácuo

Figura 9- Amostras recobertas com a camada de ouro

4.2.6 Aplicação dos agentes clareadores e dessensibilizantes nas amostras

Logo após das análises de rugosidade superficial, microdureza e MEV, as amostras foram submetidas ao tratamento clareador (T1 ou T2) e subsequente aplicação de agentes dessensibilizantes.

4.2.6.1 Tratamento clareador com peróxido de carbamida a 16%: T1

Para simular o clareamento caseiro, as amostras de esmalte e dentina foram expostas a peróxido de carbamida a 16% por 04 horas diárias durante 14 dias consecutivos (Figura 10). Após as 4 horas de exposição ao gel clareador, este foi removido e as amostras foram lavadas usando água comum durante 30 segundos. Em seguida, as amostras foram tratadas com os agentes dessensibilizantes/remineralizantes de acordo com os grupos experimentais. Assim, no grupo controle (T1/GC) foi aplicada água destilada sobre as amostras. Os dentifrícios remineralizantes (D1, D2, D3 e D4) foram aplicados diariamente, por quinze minutos imediatamente após a remoção do peróxido de carbamida a 16% e lavagem das amostras. Os agentes dessensibilizantes D5, D6 e D7 foram aplicados nos dias 1, 3, 7 e 10 do experimento.

Assim, esta etapa do estudo envolveu as seguintes ações laboratoriais:

- 1- Remoção das amostras armazenadas nos recipientes individuais numerados contendo 10 ml de água destilada.

- 2- Secagem das amostras de esmalte ou dentina usando folha de papel absorvente.
- 3- Acomodação das amostras sobre uma placa de vidro numerada (com os números das amostras).
- 4- Aplicação de acordo com as instruções do fabricante, o peróxido de carbamida 16% na superfície da amostra, de modo a recobri-la totalmente.
- 5- Remoção do peróxido de carbamida 16% de cada amostra, após o período de (04) quatro horas.
- 6- Lavagem individual das amostras com água corrente por meio minuto.
- 7- Imersão da amostra no recipiente individual numerado contendo uma solução de 1:5 (dentifrício D1, D2, D3, D4: água corrente) (Figura 12) ou recobrimento das amostras com os agentes D5, D6 e D7 (Figura 13). O dessensibilizante Desensibilize Nano P[®] (FGM) foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante. A pasta de Biosilicato[®], ou Bioglass tipo 45S5, foi preparada misturando-se aproximadamente 0,2ml (1 gota) de água destilada a 0,5g de pó dos biomateriais sobre uma placa de vidro estéril. O pó foi aglutinado à água por meio de uma espátula nº24 estéril e aplicado na superfície da amostra por 30 segundos com a ajuda do Microbrush[®]. No grupo controle (T1/GC) foi aplicada água destilada sobre as amostras. Microbrush[®].
- 8- Remoção das amostras do recipiente individual numerado contendo a solução de dentifrício D1, D2, D3, D4/ água (1:5) e os agentes D5, D6, D7 das superfícies das amostras, após quinze (15) minutos.
- 9- Lavagem das amostras em água corrente por meio minuto.
- 10- Imersão cada amostra em seu recipiente individual numerado, contendo 10 ml água destilada.

- 11- Repetição do ciclo de aplicação do agente dessensibilizante de acordo com a cronologia proposta para os D1, D2, D3, D4 (diariamente) e D5, D6, D7 (nos dias 1, 3, 7, 10) durante os 14 dias do experimento.

E ao final do último ciclo, no 14 ° dia, depois de lavar as amostras:

- 12- Acomodação das amostras sobre papel absorvente a fim de remover o excesso de umidade.
- 13- Armazenamento das amostras, secas, nos recipientes individuais, sempre numeradas, e guardadas em dessecador, para sequente observação de rugosidade, microdureza e MEV.

4.2.6.2 Tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 35%: T2

O peróxido de hidrogênio a 35% foi aplicado em um único dia por 45 minutos (três aplicações de 15 minutos cada uma) de acordo com as instruções do fabricante (Figura 11). Os agentes dessensibilizantes foram aplicados por quinze minutos, imediatamente após a remoção do peróxido de hidrogênio 35% e lavagem das amostras.

Assim, esta etapa do estudo envolve as seguintes ações laboratoriais:

- 1- Remoção das amostras armazenadas nos recipientes individuais numerados contendo 10 ml de água destilada.
- 2- Secagem das amostras de esmalte ou dentina deixando-as descansar sobre uma folha de papel absorvente.
- 3- Acomodação das amostras sobre uma placa de vidro numerada (com os números das amostras).
- 4- Aplicação de acordo com as instruções do fabricante, o peróxido de hidrogênio 35% na superfície da amostra.
- 5- Remoção do peróxido de hidrogênio 35% de cada amostra.
- 6- Lavagem individual das amostras com água corrente por meio minuto.

- 7- Nova aplicação do peróxido de hidrogênio 35% na superfície da amostra, de acordo com as instruções do fabricante.
- 8- Lavagem individual as amostras com água corrente por meio minuto.
- 9- Recobrimento das amostras com os agentes dessensibilizantes propostos usando um micro-aplicador (Micro-brush[®], Fine series). Para os grupos onde os produtos dessensibilizantes foram dentifrícios, a amostra foi imersa no recipiente individual numerado contendo uma solução de 1:5 (dentifrício D1, D2, D3, D4: água corrente). No grupo controle (T2/GC) foi aplicada água destilada sobre as amostras. O dessensibilizante Desensibilize Nano P (FGM) foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante. A pasta de Biosilicato[®], ou Bioglass[®] tipo 45S5, foi preparada misturando-se aproximadamente 0,2ml (1 gota) de água destilada a 0,5g de pó dos biomateriais sobre uma placa de vidro estéril. O pó foi aglutinado à água por meio de uma espátula nº 24 estéril e aplicado na superfície da amostra com um Microbrush[®].
- 10- Remoção dos agentes dessensibilizantes após 15 minutos, enxaguando as amostras individualmente, com água corrente por meio minuto.
- 11- Imersão da amostra em seu recipiente individual numerado, contendo 10 ml de água destilada.
- 12- Repetição do ciclo de aplicação do agente dessensibilizante de acordo com a cronologia proposta para os D1, D2, D3, D4 (diariamente) e D5, D6, D7 (nos dias 1, 3, 7, 10) durante os 14 dias do experimento.
- 13- Armazenamento das amostras, secas, em recipiente individual, numerados, e guardados em dessecador, para sequente observação de rugosidade superficial, microdureza e MEV, após o final do último ciclo, no 14º dia.

Figura 10- Aplicação Peróxido de carbamida 16%. Whiteness Perfect[®] (T1).

Figura 11- Aplicação Peróxido de Hidrogênio 35%. Whitenes HP[®] (T2).

Figura 12- Tratamento das amostras com os agentes dessensibilizantes/remineralizante D1, D2, D3 e D4.

Figura 13 - Tratamento das amostras com os agentes dessensibilizantes/remineralizadores D5, D6, D7.

Figura 14 - Fluxograma do estudo.

4.3 Análise Estatística

Os dados obtidos das amostras de esmalte e dentina dental bovino foram analisados por meio de testes estatísticos que permitiram observações intragrupo (antes e depois de cada produto) e intergrupo (análise comparativa dos produtos) através do teste de Análise de Variância (ANOVA one-way) e posterior teste de Tukey com nível de significância de 5% utilizando o software GraphPad Prism na versão 3.00.

5 Resultados

5 RESULTADOS

As amostras foram analisadas estatisticamente, a análise de variância (ANOVA one-way) mostrou que os valores baseline de microdureza e rugosidade superficial não variaram significativamente ($p>0,05$) para as amostras de dentina e esmalte, indicando a homogeneidade inicial dos grupos experimentais.

5.1 Rugosidade Superficial

Seguem-se os valores das médias de rugosidade superficial antes (t_0) e após (t_1) o procedimento de clareamento e subsequente aplicação de agentes dessensibilizantes (Tabela 2 e 3). Os valores expressos nas tabelas estão ilustrados na figura 15.

Tabela 2 – Valores das médias e desvio padrão da rugosidade superficial (Ra) do esmalte e dentina antes e depois da aplicação dos agentes dessensibilizantes quando clareados com peróxido de carbamida a 16%.

GRUPOS	SUBSTRATO			
	ESMALTE		DENTINA	
	t_0	t_1	t_0	t_1
T1/D1	0.17 (± 0.05)	0.18 (± 0.05)	0.14 (± 0.05)	0.17 (± 0.04)
T1/D2	0.12 (± 0.05)	0.15 (± 0.06)	0.12 (± 0.02)	0.13 (± 0.03)
T1/D3	0.12 (± 0.05)	0.12 (± 0.05)	0.14 (± 0.04)	0.18 (± 0.05)
T1/D4	0.16 (± 0.04)	0.15 (± 0.06)	0.14 (± 0.04)	0.16 (± 0.05)
T1/D5	0.17 (± 0.05)	0.19 (± 0.03)	0.18 (± 0.03)	0.20 (± 0.04)
T1/D6	0.13 (± 0.06)	0.17 (± 0.07)	0.14 (± 0.04)	0.19 (± 0.05)
T1/D7	0.12 (± 0.05)	0.17 (± 0.05)	0.14 (± 0.04)	0.18 (± 0.05)
T1/GC	0.13 (± 0.02)	0.18 (± 0.04)	0.14 (± 0.05)	0.19 (± 0.06)

Tabela 3 - Valores das médias e desvio padrão da rugosidade superficial (Ra) do esmalte e dentina antes e depois da aplicação dos agentes dessensibilizantes quando clareados com peróxido de hidrogênio a 35%.

GRUPOS	SUBSTRATO			
	ESMALTE		DENTINA	
	t0	t1	t0	t1
T2/D1	0.11(±0.03)	0.12 (±0.04)	0.17 (± 0.03)	0.14 (±0.04)
T2/D2	0.14(±0.04)	0.15(±0.06)	0.17(±0.05)	0.18(±0.05)
T2/D3	0.14(±0.03)	0.12(±0.03)	0.16(±0.03)	0.16(±0.05)
T2/D4	0.15(±0.07)	0.14(±0.04)	0.16(±0.04)	0.17(±0.05)
T2/D5	0.12(±0.03)	0.12(±0.03)	0.16(±0.04)	0.12(±0.02)
T2/D6	0.14(±0.05)	0.15(±0.04)	0.16(±0.05)	0.16(±0.04)
T2/D7	0.12(±0.02)	0.12(±0.03)	0.14(±0.05)	0.17(±0.08)
T2/GC	0.13(±0.03)	0.13(±0.02)	0.17(±0.03)	0.21(±0.05)

Figura 15- Gráfico ilustrando as médias dos valores obtidos nos testes de rugosidade superficial de esmalte e dentina bovina para cada grupo experimental e para cada tempo de avaliação, t0= baseline e t1= após 14 dias.

A simples observação dos resultados da rugosidade mostra para o esmalte um padrão de aumento da rugosidade (T1/D1, T1/D2, T1/D5, T1/D6, T1/D7 T1/GC e T2/D1, T2/D2, T2/D6) para a maioria dos grupos experimentais, embora esse aumento não seja homogêneo dentre os grupos e inclusive em grupos como T1/D3, T1/D4, T2/D3 e T2/D4 tenha sido observada diminuição da rugosidade superficial. Na dentina, o mesmo padrão de aumento de rugosidade é observado, também de maneira heterogênea, havendo diminuição da rugosidade nos grupos T1/D4, T2/D1 e T2/D5.

Considerando a análise intragrupo, ou seja, comparando-se o mesmo agente clareador e variando-se os agentes dessensibilizantes, a análise estatística mostrou não haver diferença significativa ($p > 0.05$) entre a rugosidade inicial (t_0) e final (t_1) tanto no esmalte quanto na dentina. Considerando-se a análise intergrupos, ou seja, comparando-se o agente clareador para os mesmos agentes dessensibilizantes a análise estatística mostrou não haver diferença estatisticamente ($p > 0.05$) para ambos substratos, inclusive para os grupos controles.

5.2 Microdureza

Os valores das médias da microdureza antes (t_0) e após (t_1) o procedimento de clareamento e subsequente aplicação de agentes dessensibilizantes estão descritos na Tabela 4 e 5. Os valores expressos nas tabelas estão ilustrados na figura 16.

A simples observação a estatística mostrou que quando os agentes dessensibilizantes /remineralizadores são usados no esmalte a microdureza aumenta, o que não ocorre no grupo controle, entretanto esta diferença não foi estatisticamente significativa neste estudo. Para a dentina observa-se um decréscimo da microdureza quando os agentes clareadores são usados com ou sem os agentes remineralizadores / dessensibilizantes. Mais uma vez, essa observação não foi estatisticamente significativa neste estudo.

Tabela 4 - Valores de microdureza e desvio padrão do esmalte e dentina ante e depois da aplicação dos produtos dessensibilizantes quando clareados com peróxido de carbamida a 16%.

GRUPOS	SUBSTRATO			
	ESMALTE		DENTINA	
	t0	t1	t0	t1
T1/D1	255.6(±39,4)	318.1(±25.71)	41.82(±6.799)	37.73(±5.291)
T1/D2	273.2(±30.84)	315.8(±17.18)	43.45(±6.785)	39.68(±5.333)
T1/D3	261.4(±42.19)	279.0(±33.90)	47.18(±6.318)	39.98(±5.497)
T1/D4	253.1(±37.74)	276.7(±32.05)	42.36(±7.715)	39.81(±6.859)
T1/D5	277.7(±29.42)	290.5(±18.42)	42.99(±8.082)	41.32(±7.281)
T1/D6	283.9(±29.78)	269.1(±25.87)	40.99(±4.902)	29.11(±4.741)
T1/D7	283.9(±32.55)	305.4(±29.53)	41.22(±7.050)	37.73(±4.701)
T1/GC	280.5(±22.15)	256.6(±29.89)	44.10(±5.803)	36.30(±5.236)

Tabela 5 - Valores de microdureza e desvio padrão do esmalte e dentina antes e depois da aplicação dos produtos dessensibilizantes quando clareados com peróxido de hidrogênio a 35%.

GRUPOS	SUBSTRATO			
	ESMALTE		DENTINA	
	t0	t1	t0	t1
T2/D1	277.7 (±27.38)	308.2 (±31.97)	42.48(±7.726)	41.98 (±4.712)
T2/D2	278.0 (±26.09)	280.1 (±28.56)	44.14 (±7.084)	43.84 (±9.642)
T2/D3	272.0 (±25.46)	285.3 (±39.40)	43.76 (±7.256)	43.24 (±9.701)
T2/D4	265.8 (±21.69)	288.5 (±36.53)	40.29 (±4.170)	39.82 (±4.765)
T2/D5	280.8 (±21.66)	291.9 (±26.97)	44.84 (±5.877)	41.68 (±4.403)
T2/D6	282.2 (±18.80)	294.5 (±36.52)	41.78 (±8.367)	39.61 (±12.23)
T2/D7	274.4 (±34.30)	257.0 (±46.18)	46.60 (±12.42)	45.85 (±10.28)
T2/GC	276.3 (±24.93)	280.8 (±33.37)	38.48 (±6.776)	33.78 (±3.570)

A análise estatística mostrou, considerando uma observação intragrupo, diferenças significativas, no esmalte, apenas para o grupo T1/D1 ($p<0,01$) ($t_0=255.6/ t_1=318.1$) onde a microdureza aumentou após os 14 dias do clareamento com peróxido de carbamida a 16% e a aplicação subsequente do dentifrício Sensodyne®. Os grupos controles (T1/GC e T2/GC) não mostraram alterações estatisticamente significantes na microdureza ($p>0,05$). Na dentina, a análise estatística mostrou que houve diferenças significativas no grupo T1/D6 ($p<0,01$)

($t_0=40,99$ / $t_1=29,11$), para este grupo após os 14 dias de clareamento com peróxido de carbamida a 16% e subsequente aplicação do agente Dessensibilize Nano P® a microdureza diminuiu.

Figura 16- Gráfico ilustrando as médias dos valores obtidos nos testes de microdureza de esmalte e dentina bovina para cada grupo experimental e para cada tempo de avaliação, t_0 = baseline e t_1 = após 14 dias.

Quanto à análise intergrupos, avaliando o agente clareador a análise estatística mostrou não haver diferenças significativas ($p>0,05$) em nenhum grupo experimental tanto para o esmalte quanto para a dentina.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

No grupo controle (tratado apenas com os agentes clareadores):

As imagens em MEV mostraram que tanto no esmalte quanto na dentina as maiores alterações ocorreram quando as amostras foram tratadas com peróxido de carbamida a 16% (T1), observou-se um padrão diferente na superfície das amostras com regiões escuras indicando a parte atacada dos tecidos pelo agente clareador.

Nos grupos tratados com agentes dessensibilizantes concomitantes ao clareamento:

As amostras de esmalte mostraram diferentes padrões. As amostras mais alteradas foram as tratadas com dentifrício Sensodyne® (D1) e Dessensibilize Nano P® (D6). Para estes grupos, pode ser observado um grande número de partículas na superfície do esmalte tratado com peróxido de carbamida a 16% e peróxido de hidrogênio a 35%.

As imagens das amostras de dentina sugerem que o peróxido de carbamida a 16% teve maior efeito sobre a superfície do que o peróxido de hidrogênio a 35%, prevalecendo túbulos dentinários abertos em quase todos os grupos experimentais. Adicionalmente, partículas podem ser observadas na superfície da dentina do grupo tratado com o Dessensibilize Nano P® (D6), no entanto, os grupos tratados com o Biosilicato® (D5) e Bioglass® (D7) em amostras expostas a peróxido de carbamida a 16% sugerem incorporação na superfície de dentina. Além disso, os túbulos dentinários parecem ser completamente obliterados quando tratados com Biosilicato® (D5) nas amostras clareadas com peróxido de hidrogênio a 35%.

As fotomicrografias podem ser observadas na figura 17.

Figura 17 - Amostras de esmalte e dentina bovina analisados em MEV (5000x). As imagens superiores correspondem ao grupo controle, onde foram aplicados os agentes clareadores (T1 ou T2). As imagens inferiores estão colocadas de acordo com o subsequente tratamento com os agentes dessensibilizantes/remineralizadores D1, D2, D3, D4, D5, D6 e D7, respectivamente.

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

Embora o clareamento dental seja um procedimento muito difundido, diferentes efeitos colaterais são relatados na literatura (DAHL; PALLESEN, 2003; GOLDBERG; GROOTVELD; LYNCH, 2010; MARKOWITZ, 2010) indicando que este procedimento causa defeitos na superfície do esmalte e dentina, sendo a hipersensibilidade dentinária o efeito colateral clínico mais comum, e o principal impedimento para o paciente completar o tratamento com sucesso (TAY et al., 2009).

Apesar da grande quantidade de agentes remineralizadores e dessensibilizantes disponíveis, a eficiência, rapidez de atuação e duração destes tratamentos está longe da ideal, uma vez que muitos são constituídos por finas películas, facilmente removidas em procedimentos rotineiros como escovação dental e mastigação ou não aderem às paredes dos túbulos dentinários ou ainda, agem apenas inibindo a propagação do estímulo da dor, sem regenerar a superfície dental.

Diante do exposto, o desenho experimental deste estudo foi realizado para avaliar o efeito de formulações experimentais contendo Biosilicato® e comparar com outros agentes remineralizantes / dessensibilizantes na rugosidade superficial e microdureza de amostras de esmalte e dentina submetidas a clareamento dental.

Para realizar este estudo foram selecionados incisivos bovinos pela semelhança estrutural com os dentes humanos (MANNING; EDGAR, 1992), coletados facilmente e em quantidade, além de proporcionar uma área suficiente para o propósito do estudo (RIEHL, 2002). Assim, este substrato representa um substituto aceito para os tecidos duros do dente humano (KIELBASSA; HELLWIG; MEYER-LUECKEL, 2006). Sabe-se que a matriz do esmalte é alterada pela ação do agente clareador que permite a difusão do peróxido do esmalte até a dentina (GOLDBERG; GROOTVELD; LYNCH, 2010), e através da permeabilidade da dentina pode chegar até a polpa dental gerando situações reportadas em estudos clínicos como

a como hipersensibilidade dentinária (HD) (BROWING; CHO; DESCHEPPER, 2012; REIS; KOSSATZ; MARTINS, 2013). Portanto, este estudo avaliou ambas as superfícies do esmalte e dentina.

Após o preparo das amostras, estas foram armazenadas em água destilada até o momento dos experimentos já descritos e também nos intervalos destes e dos respectivos testes. Neste estudo *in vitro* optou-se pela água destilada a fim de evitar o efeito de remineralização observado quando armazenado em saliva artificial (DE ABREU et al., 2011), de modo que possa se avaliar se os agentes dessensibilizantes/remineralizadores testados foram capazes de recuperar o tecido mineralizado atacado pelos agentes clareadores.

Analisou-se a rugosidade superficial (Ra) e a microdureza, pois através da comparação de medidas previas e posteriores ao tratamento é possível determinar quantitativamente as alterações na estrutura dental (JOINER, 2007). Para análise qualitativa da morfologia superficial das amostras de esmalte e dentina no tratamento clareador foi utilizada microscopia eletrônica de varredura (MEV) já que é um método rápido e conveniente (JOINER, 2007) e tem sido utilizado em diferentes estudos similares (ABOUASSI et al., 2011; CAKIR et al., 2011; CUNHA et al., 2012; DOMINGUEZ et al., 2012; GJORGIESVSKA; NICHOLSON, 2011; PINHEIRO et al., 2010; ZANTNER et al., 2007).

Atualmente, os produtos mais comumente usados pelo cirurgião dentista contêm nas formulações peróxido de carbamida para a técnica caseira e peróxido de hidrogênio para a técnica de consultório (FDI, 2013) em diversas concentrações. No presente estudo optou-se pelo peróxido de carbamida a 16% (Whiteness Perfect®) e peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP®). Estudos *in vitro* (AZRAK et al., 2010; BORGES et al., 2010; Sa et al., 2012) mostraram que os agentes clareadores podem causar um efeito erosivo no esmalte devido a seu baixo valor de pH portanto, para evitar qualquer efeito erosivo, o pH dos agentes clareadores utilizados neste estudo foi neutro (de acordo com as informações do fabricante).

No intuito de analisar o efeito dos agentes remineralizadores/ dessensibilizantes na estrutura do esmalte e dentina após o uso de agentes clareadores, foram escolhidos para este estudo produtos com modos de ação remineralizadores/ dessensibilizantes e aplicações diferentes (“uso caseiro e de uso profissional”). Dentre os produtos disponíveis no mercado nacional, foi selecionado dentifrício Sensodyne® contendo nitrato de potássio a 5%, que atua inibindo a ativação neural da dor e é um dos produtos mais usados no âmbito doméstico para tratar a HD; o dentifrício Sorriso® contendo 1500ppm de MFP pelo fato de que o uso de flúor concomitante ao procedimento de clareamento pode ser eficaz no processo da remineralização. O Desensibilize Nano P® é um produto dessensibilizante e remineralizante de uso profissional que, segundo o fabricante age ocluindo os túbulos dentinários pela disposição de nanopartículas de hidroxiapatita, o que dificulta o acesso de estímulos externos à polpa, eliminando assim a sintomatologia dolorosa. O produto experimental é uma inovação na área das vitrocerâmicas bioativas desenvolvidas no laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos. Tirapelli et al. (2010) sugeriram o uso de vidro bioativo - largamente empregado como material para enxerto ósseo - no tratamento da HD, uma vez que a dentina é um tecido mineralizado e o vidro bioativo teria potencial remineralizador.

Com o intuito de avaliarmos duas possibilidades de uso do material experimental, neste estudo o Biosilicato® foi aplicado de duas maneiras: o pó (micropartículas 1-10µm de vitro-cerâmica bioativa cristalina) do Biosilicato® misturado instantaneamente à água destilada foi aplicado no 1º, 3º, 7º e 10º do experimento e um dentifrício experimental contendo 7,5 % de Biosilicato® aplicado diariamente.

Os efeitos dos agentes clareadores na estrutura dentária têm sido relatado na literatura alterando a microdureza (BORGES et al., 2009; BORGES et al., 2010; CUNHA et al., 2012; DE ABREU et al., 2011; ZANET et al., 2011; ZANTNER et al., 2007) a rugosidade superficial (AZRAK et al., 2010; MARKOVIC et al., 2007), composição química (CAKIR et

al., 2011; GJORGIESVSKA; NICHOLSON, 2011). No entanto, os resultados achados na literatura são ainda controversos, devido à ampla variedade na metodologia (ATTIN et al., 2009).

Rugosidade Superficial:

Neste estudo, ao se avaliar os resultados de rugosidade superficial dos diferentes grupos experimentais observou-se que nenhum dos agentes clareadores usados concomitantemente ou não aos remineralizadores / dessensibilizantes empregados provocaram alterações estatisticamente significantes na superfície do esmalte e dentina comparados com a rugosidade inicial (valores baseline), inclusive no grupo controle que não recebeu aplicação de agente dessensibilizante/remineralizador.

Em relação a este resultado, há relatos na literatura que indicam as alterações de rugosidade na superfície do esmalte (AZRAK et al., 2010), entretanto, segundo os autores estas alterações podem ser devido à elevada concentração de peróxido ou a seu conteúdo baixo de pH, tanto que ao comparar três agentes clareadores com diferentes concentrações e valores de pH (peróxido de hidrogênio a 7,5%, pH= 10,8, peróxido de hidrogênio a 13,5%, pH= 6,15 e peróxido de carbamida a 35%, pH=4,9) observaram diferenças estaticamente significantes nos valores de Ra com o produto contendo 35% de peróxido de carbamida e um valor acido de pH= 4,9. Os géis usados em nosso estudo tinham pH neutro e apesar de utilizada uma concentração alta de peróxido de hidrogênio (35%), o tempo de exposição foi relativamente menor (45 minutos) em relação ao do estudo citado (10 horas) o que poderia ter influenciado nos resultados relatados pelos autores. Também contrariamente aos resultados deste presente estudo, Markovic et al. (2007) utilizando Microscópio Confocal de Varredura a laser mostraram um aumento na rugosidade do esmalte submetido a concentrações relativamente baixas de peróxido de carbamida (10-16%). Cunha et al. (2012) mostraram

comparativamente que o peróxido de carbamida a 37% teve maiores alterações na superfície do esmalte que o peróxido de hidrogênio a 35%, e imagens com MEV confirmaram este resultado mostrando alterações mais evidentes em amostras de esmalte submetidas a peróxido de carbamida a 37%.

Os resultados deste estudo estão de acordo como os achados de Abouassi et al. (2011) os quais concluíram que a rugosidade do esmalte bovino após clareamento com diferentes concentrações de peróxido de carbamida ou hidrogênio não causaram alterações significantes. De Freitas et al. (2011) mostraram em seu estudo não haver diferenças estatisticamente significantes na rugosidade superficial do esmalte após tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 38%. Da mesma forma Sa et al.(2012) no estudo *in vitro* não encontraram alterações no esmalte inclusive usando altas concentrações de peróxido de hidrogênio.

No estudo *in vitro*, De Abreu et al. (2011), demonstraram que a rugosidade superficial é alterada apenas quando peróxido de hidrogênio é aplicado, porém após imersão das amostras na saliva artificial os valores são similares ao iniciais (baseline).

Embora os resultados não tenham mostrado uma diferença estatisticamente significativa, foi observado um padrão de aumento da rugosidade do esmalte para a maioria dos grupos experimentais e um decréscimo da rugosidade superficial nos grupos tratados com agentes remineralizadores / dessensibilizantes do tipo dentifrício, onde supomos que a remoção das partículas dos dentifrícios ocorre mais facilmente, o que pode ser atribuído ao conteúdo tensioativo destes produtos.

Microdureza:

Nos ensaios de microdureza, os resultados mostraram que o peróxido de hidrogênio a 35% não promoveu diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos grupos controles tanto no esmalte quanto na dentina.

Contrariamente aos resultados do presente estudo Borges et al. (2009) mostraram que o peróxido de hidrogênio a 35%, usado por 30 minutos é capaz de reduzir a microdureza tanto da superfície quanto da estrutura sob a superfície do esmalte; segundos estes autores as alterações de microdureza provavelmente estão atribuídas à capacidade de reação do agente clareador com a fase orgânica do esmalte, consequentemente afetando o conteúdo mineral, assim a redução da microdureza está associada à perda do conteúdo de mineral como resultado da desmineralização (FEATHERSTONE et al., 1983). A respeito da análise em MEV e EDX feita por Gjorgievska e Nocholson (2010) indicaram redução de cálcio e fósforo no esmalte tratado com peróxido de carbamida a 16%. De forma similar, Cakir et al. (2011) concluíram que o peróxido de carbamida a diferentes concentrações causa similares alterações na composição química da dentina. De acordo com Rodrigues et al. (2011), o tempo de contato entre o peróxido de hidrogênio e o esmalte pode afetar significativamente a microdureza do esmalte. Deste modo, o resultado obtido neste estudo pode ser atribuído ao fato de que as amostras submetidas a este agente clareador foi uma única sessão de 45 minutos, com intervalos de 15 minutos, exatamente como indica o fabricante.

Por outro lado, os resultados deste estudo são similares aos achados por Abouassi et al. (2011), cujo estudo mostrou que não houve diferenças significativas na microdureza do esmalte bovino após exposição a agentes clareadores com diferentes concentrações de peróxido de carbamida e hidrogênio. Outro estudo realizado por Sa et al. (2012) apontou que em condições *in vitro* a microdureza do esmalte não era afetada por agentes clareadores de elevadas concentrações (35 e 38% de peróxido de hidrogênio).

Neste estudo, observou-se uma redução na microdureza apenas no grupo de amostras de dentina expostas a peróxido de carbamida a 16% e subsequente aplicação de Desensibilize Nano P®. Portanto, neste grupo o agente clareador foi capaz de afetar o substrato da dentina apesar de sua baixa concentração e aplicação do produto remineralizante. O fato de a dentina

ter sido afetado concorda como os achados de Faroni-Romano et al. (2008) ao concluírem que diferentes concentrações de peróxido de carbamida ou hidrogênio não alteram a microdureza do esmalte, porém atribuíram esta condição apenas para a dentina.

Outro achado significativo se deu no grupo T1/D1 do esmalte, onde a microdureza aumentou após os 14 dias do clareamento com peróxido de carbamida a 16% e a aplicação subsequente do dentifrício Sensodyne®.

Observou-se também, que a dentina teve um decréscimo da microdureza quando os agentes clareadores são usados com ou sem os agentes remineralizadores / dessensibilizantes. Apesar de que essa observação não foi estatisticamente significativa neste estudo, é importante considerar que a dentina radicular apresenta maior susceptibilidade à desmineralização, e solubilidade em relação ao esmalte (WEFEL, 1994).

MEV:

Embora os resultados obtidos quanto à rugosidade superficial e microdureza não mostraram alterações estatisticamente significantes nos grupos controles, as imagens feitas em MEV no presente estudo evidenciaram que as superfícies do esmalte e da dentina foram alteradas quando expostas ao peróxido de carbamida a 16%. Nos grupos experimentais, foi possível observar que as alterações na dentina quando submetidas ao peróxido de carbamida a 16% expôs os túbulos dentinários de maneira semelhante ao encontrado por Pinheiros et al. (2010), Gjorgiesvska e Nicholson (2011) e Cunha et al. (2012). Isto pode ser devido ao fato de que as amostras foram expostas por mais tempo (04 horas por 14 dias) do que as amostras tratadas com peróxido de hidrogênio a 35% de (única aplicação de 45 minutos). Por outro lado, partículas podem ser observadas na superfície da dentina do grupo tratado com pasta Desensibilize Nano P®, todavia, os grupos tratados com o Bioglass® e Biosilicato® após clareamento com peróxido de carbamida 16% sugerem a incorporação na superfície de

dentina. Além disso, os túbulos dentinários parecem ser completamente obliterados quando tratados com Biosilicato® nas amostras clareadas com peróxido de hidrogênio a 35%.

É importante considerar que outros métodos de avaliação como PSD (Power Spectral Density) ou Microscópio de Força Atômica para a identificação de alterações morfológicas, ou análises químicas complementárias que possam elucidar a existência de perda mineral durante o processo de clareamento dental.

A natureza *in vitro* deste estudo apresenta algumas limitações para reproduzir outros fatores que estão presentes na cavidade oral (temperatura, pH, saliva natural, etc), além de questões inerentes ao paciente como a alimentação ácida, qualidade e quantidade da saliva, que podem apresentar ação direta sobre as estruturas dentárias, portanto outros estudos *in situ* ou *in vivo* serão necessários para esclarecer estes resultados.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia utilizada neste estudo pode-se concluir que:

- A rugosidade superficial e microdureza do esmalte e dentina não são afetadas pelo peróxido de carbamida a 16% ou peróxido de hidrogênio a 35%.
- Os agentes clareadores usados conjuntamente com os agentes remineralizadores / dessensibilizantes não alteraram a rugosidade superficial do esmalte e da dentina bovina.
- A microdureza do esmalte e dentina bovina é alterada com o uso de Desensibilize Nano P® ou dentifrício Sensodyne® após clareamento com peróxido de carbamida a 16%.
- As novas formulações experimentais contendo Biosilicato®, não alteraram a rugosidade superficial e microdureza de amostras de esmalte dental e dentina quando submetidas ao tratamento com peróxido de hidrogênio 35% ou peróxido de carbamida 16%.

Referências

REFERÊNCIAS¹

ABOUASSI, T.; WOLKEWITZ, M.; HAHN, P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. **Clin Oral Invest**, v.15, n.5, p.673-680, oct. 2011.

ATTIN, T. et al. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: A review. **Dent Mater**, v.25, n.2, p.143-157, feb. 2009.

AZRAK, B. et al. Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. **J Esthet Restor Dent**, v.22, n.6, p.391-401, 2010.

BERNARDON, J.K. et al. Clinical performance of vital bleaching techniques. **Oper Dent**, v.35, n.1, p.3-10, 2010.

BORGES, A.B. et al. Influence of potentially remineralizing on bleached enamel microhardness. **Oper Dent**, v.34, n.5, p.593-597, 2009.

BORGES, A.B. et al. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness. **Oper Dent**, v.35, n.2, p.180-186, 2010.

BOUSHELL, L. W. et al. Nightguard vital bleaching: side effects and patient satisfaction 10 to 17 years post-treatment. **J Esthet Restor Dent**, v.24, n.3, p.211-220, 2012.

BROWING, W.D.; CHO, S.D.; DESCHEPPER, E.J. Effect of a nano-hydroxyapatite paste on bleaching-related tooth sensitivity. **J Esthet Restor Dent**, v.24, n.4, p.268-276, 2012.

CANADIAN ADVISORY BOARD ON DENTIN HYPERSENSITIVITY. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. **J Canad Dent Assoc**, v.69, n.4, p.221-226, apr. 2003.

CAKIR, F.Y. et al. Chemical analysis of enamel and dentine following the application of three different at-home bleaching systems. **Oper Dent**, v.36, n.5, p.529-536, sep-oct. 2011.

CHARAKORN, P. et al. The effect of preoperative ibuprofen on tooth sensitivity caused by in-office bleaching. **Oper Dent**, v.34, n.2, p.131-135, mar-apr. 2009.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023

CHEN, H.P. et al. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. **J Dent**, v.36, n.9, p.718-25, 2008.

COSTA, J.B.; MAZUR, R.F. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an in vitro study. **Oper Dent**, v.32, n.6, p.589-594, nov-dec. 2007.

COBANKARA, F.K. et al. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. **Int Dent J**, v.54, n.4, p.211-218, aug. 2004.

CUNHA, A.G. et al. Efficacy of in-office bleaching techniques combined with the application of a casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate at different moments and its influence on enamel surface properties. **Microsc Res Tec**, v.75, n.8, p.1019-1025, aug. 2012.

DAGUANO, M.J.K. **Biovidros e vitrocerâmicas bioativos do sistema 3CaO. P₂O₅-SiO₂-MgO para aplicações biomédicas: processamento e caracterizações estruturais, mecânicas e biológicas.** [Tese]. Lorena, São Paulo. Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. 2011.

DAHL, J.E.; PALLESEN, U. Tooth bleaching- A critical review of the biological aspects. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.4, n.4, p.292-304, 2003.

DE ABREU, D. et al. Effect of home-use and in-office bleaching agents containing hydrogen peroxide associated with amorphous calcium phosphate on enamel microhardness and surface roughness. **J Esthet Restor Dent**, v.23, n.3, p.158-168, 2011.

DE FREITAS, A.C. et al. Effects of fluoride or nanohydroxiapatite on roughness and gloss of bleached teeth. **Microsc Res Tec**, v.74, p.1069-1075, 2011.

DE SOUZA COSTA, C.A. et al. Human pulp responses to in-office tooth bleaching. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.109, n.4, p.e59-e64, 2010.

DE VASCONCELOS, A.A.M. et al. Tooth whitening hydrogen/carbamide peroxides in association with CPP-ACP paste at different proportions. **Aust Dent J**, v.57, n.2, p.213-219, 2012.

DOMINGUEZ, J.A. et al. Ultrastructural evaluation of enamel after bleaching associated with fluoride. **Microsc Res Tec**, v.75, n.8, p.1093-1098, 2012.

EFFLANDT, S.E. et al. Interaction between bioactive glasses and human dentin. **J Mater Sci Mater Med**, v.13, n.6, p.557–65, jun. 2002.

FARAONI-ROMANO, J.J. et al. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. **J Esthet Restor Dent**, v.20, n.6, p.395-404, 2008.

FEATHERSTONE, J.D.B. et al. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res**, v.17, n.5, p.385–391, 1983.

FDI WORLD DENTAL FEDERATION. FDI policy statement on dental bleaching materials. **Int Dent J**, v.63, n.1, p.2-3, feb. 2013.

GJORGIEVSKA, E.; NICHOLSON, J.W. Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. **Aust Dent J**, v.56, n.2, p.193-200, jun. 2011.

GLADWELL, J.; SIMMONS, D.; WRIGHT, J.T. Remineralization potential of a fluoridated carbamide peroxide whitening gel. **J Esthet Restor Dent**, v.18, n.4, p.206–213, 2006.

GOLDBERG, M.; GROOTVELD, M.; LYNCH, E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. **Clin Oral Invest**, v.14, n.1, p.1-10, 2010.

HAYWOOD, V.B.; HEYMANN, H.O. Nightguard vital bleaching. **Quintessence Int**, v.20, n.3, p.173-176, 1989.

HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **J Mater Sci: Mater Med**, v.17, n.11, p.967–978, 2006.

HEYMANN, H.O. Tooth Whitening: facts and fallacies. **Br Dent J**, v.198, n.8, p.514, 2005.

HIRATA, R. **Tips: Dicas em Odontologia Estética**. São Paulo: Artes Médicas, 2011. 55 p.

JOINER, A. The bleaching of teeth: A review of the literature. **J Dent**, v.34, n.7, p.412-419, aug. 2006.

JOINER, A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. **J Dent**, v.35, n.12, p.889-896, 2007.

KIELBASSA, A.M.; HELLWIG, E.; MEYER-LUECKEL, H. Effects of irradiation on in situ remineralization of humane and bovine enamel demineralized in vitro. **Caries Res**, v.40, n.2, p.130-135, 2006.

KIHN, P.W. Vital Tooth Whitening. **Dent Clin N Am**, v.51, n.2, p.319-331, apr. 2007.

LEONARD, R.H. et al. Evaluation of side effects and patients' perceptions. **J Esthet Restor Dent**, v.19, n.6, p.355-366, 2007.

LI, Y. Safety Controversies in Tooth Bleaching. **Dent Clin N Am**, v.55, n.2, p.255-263, 2011.

MANNING, R.H.; EDGAR, W.M. Intra-oral models for studying de- and remineralization in Man: Methodology and Measurement. **J Dent Res**, v.71, p.895-900, apr. 1992. Spec Iss.

MARKOVIC, L. et al. Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching. **J Endod**, v.33, n.5, p.607-610, 2007.

MARKOWITZ, K. Pretty painful: why does tooth bleaching hurt?. **Med Hypotheses**, v.74, n.5, p.835-840, 2010.

MATIS B.A. et al. In vivo study of two carbamide peroxide gels with different desensitizing agents. **Oper Dent**, v.32, n.6, p.549-555, 2007.

MEDEIROS, M.C.; DE LIMA, K.C. Effectiveness of nightguard vital bleaching with 10% carbamide peroxide - a clinical study. **J Can Dent Assoc**, v.74, n.2, p.163-163e, mar. 2008.

MEIRELES, S.S. et al. Efficacy and safety of 10% and 16% carbamide peroxide tooth-whitening gels: A Randomized Clinical Trial. **Oper Dent**, v.33, n.6, p.606-612, 2008.

MOURA, J. et al. In vitro osteogenesis on a highly bioactive glass-ceramic (Biosilicate®). **J Biomed Mater Res**, v.82, n.3, p.545-57, sep. 2007.

ORCHARDSON, R.; GILLAM, D.G. Managing dentin hypersensitivity. **J Am Dent Assoc**, v.137, n.7, p.990-998, 2006.

ONTIVEROS, J.C. In-office vital bleaching with adjunct light. **Dent Clin N Am**, v.55, n.2, p.241-253, apr. 2011.

PINHEIRO, H. et al. Influence of bioactive materials used on the dentin surface whitened with carbamide peroxide 16%. **Materials Research**, v.13, n.2, p.273-278, 2010.

REIS, A.; KOSSATZ, S.; MARTINS, G.C. Efficacy of and effect on tooth sensitivity of In-office bleaching gel concentrations: A randomized clinical trial. **Oper Dent**, v.38, n.4, p.386-393, 2013.

RIEHL, H. **Estudo in vitro de três diferentes agentes clareadores sobre a dureza e rugosidade do esmalte dentário bovino**. [Tese] 102p. Bauru. Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. 2002.

RITTER, A.V. et al. Safety and stability of nightguard vital bleaching: 9 to 12 years post-treatment. **J Esthet Restor Dent**, v.14, n.5, p.275-285, 2002.

RODRIGUES, J.A. et al. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. **Am J Dent**, v.14, n.2, p.67-71, apr. 2001.

RORIZ, V.M. et al. Efficacy of a bioactive glass-ceramic (Biosilicate®) in the maintenance of alveolar ridges and in osseointegration of titanium implants. **Clin Oral Implants Res**, v.21, n.2, p.148-55, feb. 2010.

SA, Y. et al. Effects of two in-office bleaching agents with different pH on the structure of human enamel: an in situ and in vitro study. **Oper Dent**, v.38, n.2, p.1-11, 2012.

SYKES, L.M. Dentine hypersensitivity: a review of it's aetiology, pathogenesis and management. **SADJ**, v.62, n.2, p.066-71, 2007.

SULIEMAN, M. et al. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. **J Dent**, v.32, n.7, p.581-590, sep. 2004.

TAY, L.Y. et al. Assessing the effect of a desensitizing agent used before in-office bleaching. **J Am Dent Assoc**, v.140, n.10, p.1245-1251, 2009.

TIRAPELLI, C. et al. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. **Braz Oral Res**, v.24, n.4, p.381-387, dec. 2010.

TIRAPELLI, C. et al. The effect of a novel crystallized bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study. **J Oral Rehabil**, v.38, n.4, p.253-262, 2011.

TREDWIN, C.J. et al. Hydrogen peroxide tooth - whitening (bleaching) products: Review of adverse effects and safety issues. **Br Dent J**, v.200, n.7, p.371-376, apr. 2006.

WEFEL, J.S. Root caries histopathology and chemistry. **Am J Dent**, v.7, n.5, p.261-265, 1994.

ZANET, C.G.; FAVA, M.; ALVES, L.A. *In vitro* evaluation of the microhardness of bovine enamel exposed to acid solutions after bleaching. **Braz Oral Res**, v.25, n.6, p.562-567, dec. 2011.

ZANOTTO, E.D. et al. Fundação Universidade Federal de São Carlos; Universidade de São Paulo. **Process and compositions for preparing particulate, bioactive or resorbable biosilicates for use in the treatment of oral ailments**. Patent WO2004/074199, 20 Feb. 2004.

ZANTNER, C. et al. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. **Dent Mater**, v.23, n.2, p.243-250, 2007.

Anexos

ANEXO A

Tabela 6 – Matéria prima, fabricante e ação dos componentes do dentifrício experimental.

Matéria-prima para formulação do dentifrício experimental	Percentual	Ação
Hidroxietilcelulose	1%	Espessante
Glicerina branca	72,62%	Umectante
Benzoato de sódio	0,10%	Conservante
Sacarina sódica	0,08%	Edulcorante
Micro-partículas de Biosilicato®	7,5%	Agente remineralizador
Sident 22	14%	Abrasivo
Aerosil200	0,30%	Espessante
PEG400	4%	Umectante
Lauril sulfato de sódio	1,40%	Tensioativo
Aroma de menta vermelha	0,50%	Flavorizante
Aroma de menta IFF	1%	Flavorizante