

THAYNE WALESKA YAMAMOTO

Efeito da utilização de dentifrícios com diferentes compostos bioativos nas propriedades superficiais do esmalte dental clareado

São Paulo

2012

THAYNE WALESKA YAMAMOTO

Efeito da utilização de dentifrícios com diferentes compostos bioativos nas propriedades superficiais do esmalte dental clareado

Versão Corrigida

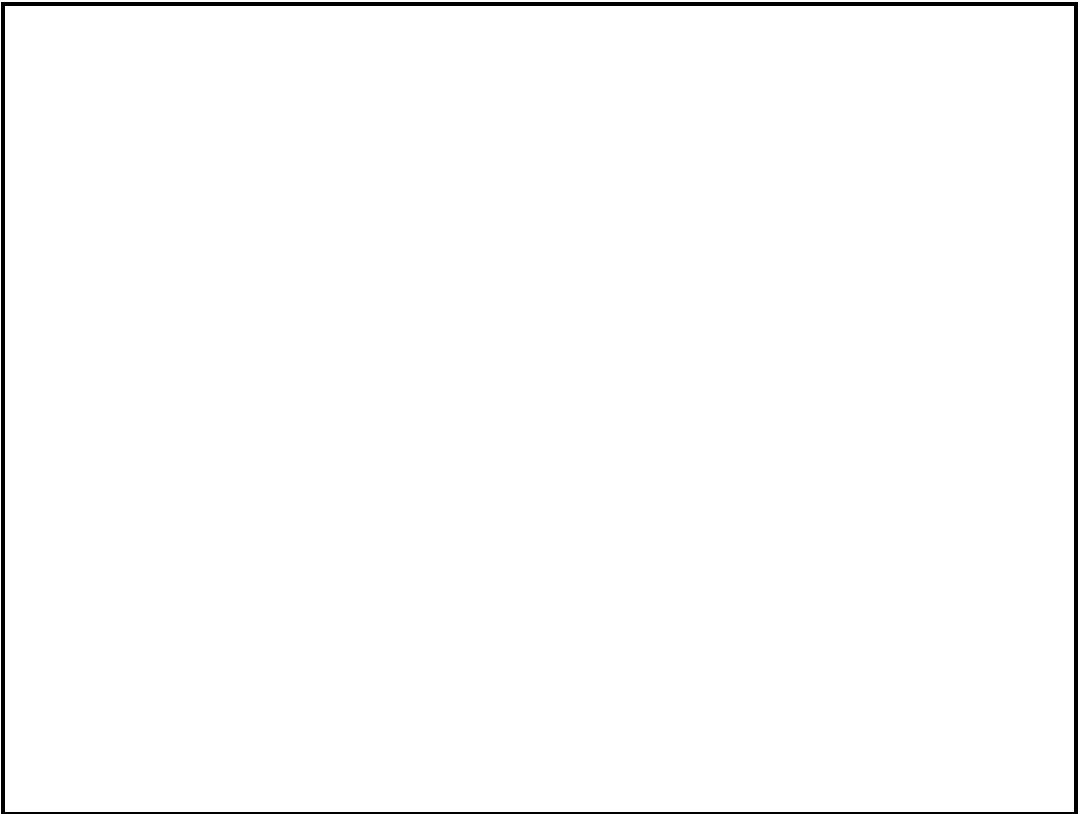
Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Rubens Côrte Real de Carvalho

São Paulo

2012



Yamamoto TW. Efeito da utilização de dentifrícios com diferentes compostos bioativos nas propriedades superficiais do esmalte dental clareado. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: / /

Banca Examinadora

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rubens Corte Real de Carvalho, que em todos esses anos sempre me possibilitou chegar mais perto dos meus sonhos, e nunca me deixou desistir. Só posso dedicar esse trabalho ao senhor, pois, apesar de muitas pessoas terem me ajudado e me apoiado, o senhor quem me ensinou, orientou e acompanhou todas as mudanças e dificuldades que tive. Para mim a pessoa sensata, íntegra e sábia estará presente em todos os meus dias. Faltam-me palavras e jeito para expressar o carinho que eu tenho pelo senhor!

Aproveito esse cantinho da dedicatória para já deixar o meu agradecimento, por permitir que eu fosse sua orientada por todos esses anos, por me ajudar a concluir esse trabalho e por permitir que eu sempre tivesse a escolha de continuar.

Obrigada!

Agradecimentos Especiais

Eu não poderia deixar de agradecer, nem por um instante, à **Alessandra Pereira de Andrade** e à **Angela Mayumi Shimaoka**. Dentre tantas pessoas, vocês sempre me estenderam a mão e me mostraram como caminhar direito. Não se trata apenas de serem pessoas respeitadas na FOU SP, mas para mim vocês são exemplos de pessoas que devem ser admiradas todos os dias. Eu, que hoje sei que tenho tanto a aprender, só pude perceber isso graças à vocês, e não há formas de eu demonstrar o quão feliz e grata eu sou por ter percebido isso. Minha família sempre me ensinou que devemos nos esforçar todos os dias para sermos pessoas melhores, não somente pelo sucesso ou popularidade, mas por personalidade e capacidade. Vocês sempre serão o meu maior exemplo de pessoas que a cada dia se tornam mais respeitadas por sua competência, capacidade e integridade.

Obrigada por fazerem parte da minha vida!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Chico e Beth, por apoiarem meus sonhos e fazerem de tudo para que eu os realizasse. Nada nas nossas vidas foi simples e fácil, né? A gente teve nossos momentos... mas eu bem sei que, sem o esforço de vocês, eu jamais chegaria tão longe! Pai, eu só posso agradecer todos os dias por você dedicar seu trabalho, esforço e amor a nós, eu e mamãe. Sem isso a gente não teria a oportunidade de ter um momento como esse. Mammy! Aos trancos e barrancos e com muitos puxões de orelha as coisas aconteceram. Obrigada por ser essa mulher forte e cheia de personalidade que todo mundo adora! Amo vocês!

Aos meus tios, Takaoka e Clarice, que me acompanharam durante essa jornada! Eu sempre vejo em vocês o futuro que quero pra mim. Adoro o jeitinho que vocês cuidam da família toda. Obrigada por cuidarem tão bem de mim!

Às primas, Karen e Miriam, pelos ótimos finais de semana em que pude descansar e me divertir com vocês!

À tia Olinda, que por um encontro ao acaso no supermercado, me ajudou muito a ingressar na pós-graduação! Sem a sua ajuda eu não teria sido aprovada no TOEFL! Nós temos por você e sua família um carinho e admiração imensos! Agradeço por permitir que eu faça parte de sua família também!

Às minhas primas e madrinha, que me receberam muito bem em sua casinha numa viagem super curta, porém necessária! Quería muito poder dedicar mais tempo a vocês, mas tenho certeza de que sabem o quanto eu adoro e penso em todas!

À Michelle Palmieri, por não somente dividir o espaço dela comigo, mas por sempre me motivar e me mostrar diversas formas de se enxergar as situações! Eu já disse uma vez, e faço questão de repetir: você é um anjinho na minha vida!

À Rosi Freitas e à Força Especial! Os momentos que você me proporcionou, Rosi, foram essenciais para que eu pudesse respirar e seguir em frente. Às meninas do grupo: vocês tornam os meus finais de semana muito mais felizes!

Ao Caio, que me trouxe ao equilíbrio num momento em que eu precisava muito de um braço mais forte! Eu espero poder desfrutar desses momentos não somente nos dias ruins, mas nos dias calmos também. Você, que me acompanhou nessa reta final e segurou as pontas, se tornou uma pessoa importante pra mim. Que a gente possa amadurecer todos os dias e aprender juntos.

Obrigada por me aturar nos dias brabos e me acalmar nos dias bagunçados!

Aos mais que indispensáveis amigos da "famosa" pensão: Evandro, Henrique Senna, Inaê, Renan, Walter, Neuzinha, Camila, Carlos, Fabiano, Tiago, Cris, Pablo, Denis, Ed, Paulo, André, Aline Felício, Aline Bello, Mari, Moussa, Jansen, Cecília, Albert, Mouritz, Albert, Carolzinha. Pessoas mais lindas do mundo! O que eu posso dizer de vocês? Obrigada pelos momentos mais perfeitos e divertidos de todos! Vocês foram amigos em todos os momentos, e me seguraram, apoiaram, ensinaram... Mostraram-me o mundo de outra forma. É triste quando um ou outro teve que partir, mas nas lembranças sempre vai ter o carinho e sorriso de vocês todos! Amo muito todos vocês!

Ao amigo querido Farley, que me mostrou que o mundo é muito maior do que eu imaginava e que também me ensinou que muitas vezes precisamos deixar as preocupações um pouco de lado. Pessoa admirável e muito querida!

Às minhas colegas de mestrado: Anely, Bruna, Cynthia, Carol, Ju, Livia, Mayra, Tati, Thayssa e Thayanne! Confesso, não sou de falar muito, nem estive tão presente ao lado de vocês, e peço desculpas. Mas eu vi em cada uma um jeitinho de ser que ficará guardado pra sempre no coração da Thayne. Vocês são maravilhosas meninas, e sinto-me orgulhosa de poder ter estado aqui e conhecido vocês!

À Livia, dupla pra quase todos os trabalhos, mas uma amiga de verdade! Agradeço a você pelas conversas, passeios e companheirismo!

Aos demais alunos do programa de pós-graduação, por estarem dividindo um pedacinho de si comigo também. Quando eu encontro com todos no departamento vejo que Deus só colocou pessoas especiais em minha vida.

A todos os professores do departamento de dentística. Cada um, a sua maneira, me cativou de uma forma diferente. Eu sinto hoje um orgulho maior ainda por falar que sou aluna de vocês. Obrigada por serem meus professores desde a graduação e por também permitirem que eu conhecesse um lado não somente profissional. Tenho certeza que todos dividiram um pouco de si comigo, e fico feliz por poder ter passado inúmeros momentos com vocês.

Aos funcionários do departamento, por sempre me receberem com um sorriso no rosto e por me ajudarem em todos os momentos que precisei.

À técnica do laboratório, Soninha, que há anos me vê passar, me acompanha e sempre está de bom humor! Obrigada pelo apoio!

À CAPES, pela concessão da bolsa durante a realização deste curso.

À Faculdade de Odontologia da USP, por me acolher durante a graduação e pós graduação. As pessoas daqui é que realmente tornam essa instituição tão especial.

RESUMO

Yamamoto TW. Efeito da utilização de dentifrícios com diferentes compostos bioativos nas propriedades superficiais do esmalte dental clareado [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão Corrigida.

O presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão da literatura para verificar se os novos compostos bioativos presentes no mercado, como CPP-ACP, fosfosilicato de cálcio e sódio e o nitrato de potássio são eficazes na remineralização do esmalte dental clareado. As alterações ocorridas na superfície dental devido ao clareamento são diversas. Dentre elas, pode-se citar a rugosidade, dureza, perda de conteúdo mineral e alterações morfológicas como as mais estudadas. Muitas formas de análises tem sido utilizadas para essas avaliações, porém duas novas técnicas demonstram-se promissoras: o QLF e a nanoidentação. O QLF relaciona-se com a auto fluorescência dental, possuindo vantagens relacionadas a sua especificidade, simples manuseio e preservação do espécime. Já a nanoidentação é capaz de mensurar a dureza em sítios específicos, em uma escala nanométrica, permitindo uma criteriosa seleção da área a ser analisada. Os resultados obtidos não necessitam da mensuração visual da área demarcada pelo indentador, o que se torna mais uma vantagem da técnica. Foi conclusivo que a literatura diverge quanto aos resultados apresentados até o momento relacionados aos efeitos do clareamento dental na superfície dental, e os estudos que avaliaram os diversos compostos bioativos apresentam diferentes metodologias que não permitem o estabelecimento de um protocolo de aplicação dos mesmos. Sendo assim, faz-se necessária a realização de novos estudos para avaliar os possíveis efeitos dos diferentes compostos quando da utilização destes como dentifrícios de uso terapêutico após o tratamento clareador.

Palavras-chave: Clareamento. CPP-ACP. NovaMin®. Nitrato de potássio. Flúor. QLF. Nanoidentação.

ABSTRACT

Yamamoto TW. Effect of toothpastes with different bioactive compounds on dental bleached enamel superficial properties [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012. Versão corrigida.

This study aimed to review the literature and verify if the new bioactive compounds, like CPP-ACP, calcium sodium phosphosilicate and potassium nitrate are effective on the remineralization of the bleached dental enamel. There are several alterations occurred on the dental surface owing to the bleaching procedure. Among them: roughness, microhardness, mineral content loss and morphologic alterations are the most evaluated. Many different analysis have been used to assess the changes in the dental structure, however two of them have shown to be promising: the QLF and the nanoindentation. The QLF is related with the auto fluorescence of the teeth and has advantages related to its specificity, simple manipulation and it is not a destructive technique. On the other hand, the nanoindentation is capable to measure the surface hardness in very specific sites, in a nanometric scale, enabling a criterious selection of the area which will be analyzed. The results obtained by this equipment do not require the visual measure of the impressed area of the indentation, which is one advantage of the methodology. It was conclusive that the literature disagrees of the results presented about the effects of dental bleaching on the enamel surface and the researches that evaluated the bioactive compounds have demonstrated differences in their methodologies. These inconclusive findings interfere on the establishment of an application protocol to those new dentifrices. Thus, it is necessary to develop new researches to better understand the possible effects of the bioactive compounds when the use of these dentifrices are related to a therapeutic use after treatment with bleaching agents.

Keywords: Bleaching. CPP-ACP. NovaMin®. Potassium nitrate. Fluoride. QLF. Nanoindentation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
3 PROPOSIÇÃO	27
4 DISCUSSÃO	30
5 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O apelo estético da sociedade atual exige que os indivíduos busquem, de uma maneira geral, se adequar a padrões de beleza estabelecidos. Nesse contexto, a estética na odontologia valorizou-se demasiadamente e o clareamento dental tornou-se um dos procedimentos mais procurados nos consultórios odontológicos pelos pacientes.

O tratamento clareador possui algumas características vantajosas em relação aos demais procedimentos estéticos: possui uma técnica minimamente invasiva, o que é preconizado na odontologia contemporânea, baixo custo e o tempo de execução do trabalho é menor para a maioria dos casos.

No mercado odontológico, podemos encontrar uma diversidade de produtos clareadores, que podem ser à base de peróxido de hidrogênio ou peróxido de carbamida, em diferentes concentrações. O peróxido de hidrogênio é o ingrediente ativo dos géis clareadores: é um forte agente oxidante que possui a capacidade de se difundir pelas estruturas dentais mineralizadas em função da permeabilidade destes substratos e devido ao baixo peso molecular dessas substâncias.

No entanto, o contato direto dos agentes clareadores com as superfícies dentais mineralizadas por um longo período, pode causar efeitos adversos a estas superfícies, tais como diminuição da dureza, aumento da rugosidade superficial e a alteração morfológica do esmalte exposto aos agentes clareadores.

Através de uma extensa revisão da literatura foi constatado que não há uma concordância no que diz respeito aos efeitos no substrato dental.

Vários métodos têm sido utilizados na avaliação de modificações ocorridas devido ao clareamento dental, incluindo testes que avaliam quantitativamente alterações das propriedades físicas e químicas, como o teste de dureza superficial, variações na composição mineral por meio de dosagens bioquímicas e quantificação mineral por meio da fluorescência do elemento dental.

Na tentativa de minimizar os possíveis efeitos adversos causados por essas substâncias nas superfícies mineralizadas, muitos autores avaliaram a utilização de fluoretos, demonstrando haver efeitos benéficos durante o tratamento de clareamento dental promovendo proteção à estrutura dental devido à reposição dos íons perdidos durante o processo desmineralizador.

Além disso, com o advento de novas tecnologias, a incorporação de diversos compostos bioativos nos dentifrícios tornou-se comum nos últimos anos. Dentre eles, podemos mencionar o fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP), o fosfosilicato de cálcio e sódio (NovaMin®), nitrato de potássio, dióxido de titânio, entre outros. A principal indicação desses novos dentifrícios é a sensibilidade dentária, geralmente relacionada a processos erosivos ou desmineralizadores que causam a exposição dos túbulos dentinários, ocasionando a sintomatologia dolorosa. Porém, em muitos casos, após o tratamento clareador, os pacientes também relatam sensibilidade e por vezes essas novas pastas podem ser indicadas. De acordo com o mecanismo de ação desses compostos bioativos, a deposição dos íons de diferentes formas pode auxiliar na remineralização e diminuir a desmineralização.

Entretanto poucos estudos avaliaram estas características e os resultados ainda são contraditórios, o suposto efeito de aceleração no processo de remineralização destes compostos bioativos sobre o esmalte dental clareado ainda não foi estabelecido efetivamente.

Muitas formas de análise já são estabelecidas para avaliar as alterações ocasionadas pelos tratamentos clareadores, e recentemente alguns autores introduziram novas técnicas para que assim seja possível uma melhor compreensão dos diferentes mecanismos de ação química ocorridos durante os processos desmineralizadores e remineralizadores.

Dentre eles, a quantificação mineral por meio da fluorescência do elemento dental (QLF™) está sendo utilizada para avaliar a superfície de esmalte dental quando do manchamento da estrutura, assim como uma possível alteração subsuperficial do substrato. Já a mensuração da dureza dental em uma escala nanométrica possibilita uma avaliação em diferentes regiões do esmalte dental. Este método é caracterizado pela indentação em uma área estreita, através de cargas reduzidas, quando comparado com a microindentação.

Esse trabalho verificou os diferentes resultados obtidos até o presente momento relacionados com as alterações ocasionadas pelo clareamento dental e os possíveis efeitos benéficos dos compostos bioativos quando analisados por novas metodologias relacionadas a ultradureza e fluorescência do substrato dental.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O atual conceito de estética que a sociedade exige não se limita mais somente ao físico do ser humano. Os padrões de beleza preconizados influenciam o cotidiano, valorizam as relações interpessoais e também a relação intrapessoal. Nesse contexto, a busca por um sorriso “perfeito” se tornou uma das preocupações dos pacientes ao buscarem tratamentos odontológicos. Dentre as queixas mencionadas pelas pessoas, uma delas relaciona-se com a coloração dos dentes. É comum o termo “dentes amarelados” ser citado quando as pessoas relatam seus anseios por um sorriso estético.

O manchamento dos dentes varia em sua etiologia, aparência, localização, severidade e aderência a estrutura dental. Pode ser classificado como intrínseco, extrínseco ou uma combinação de ambos (1).

A coloração intrínseca dos dentes é associada com as propriedades da luz de espalhamento e absorção no esmalte e na dentina (2). É caracterizada pela incorporação de material cromatogênico junto a essas estruturas durante a odontogênese ou após a erupção dos dentes. Exposição a altos níveis de fluoretos, administração de tetraciclina e distúrbios de desenvolvimento podem resultar no manchamento pré-eruptivo. Após a erupção dos dentes, a deposição de dentina secundária devido à idade, necrose pulpar e iatrogenia são as principais causas do manchamento intrínseco. (1).

Já as manchas extrínsecas tendem a se formar nas áreas onde a escovação e ação dos dentífrícios são menos acessíveis ou causadas por hábitos tabagistas, ingestão de alimentos ricos em corantes e uso de alguns agentes catiônicos como a clorexidina (2, 3, 4). Os procedimentos profiláticos como raspagem e polimento muitas vezes são capazes de remover grande parte das manchas extrínsecas, porém, para o manchamento intrínseco, na maioria dos casos o clareamento é indicado.

Este procedimento se tornou uma opção para os tratamentos estéticos desde 1898. Diversas substâncias já foram utilizadas para a realização do clareamento de dentes não vitais, como por exemplo cloreto, hipoclorito de sódio, perborato de sódio e até mesmo o peróxido de hidrogênio. Estes eram utilizados sozinhos ou combinados, e podiam ou não ter ativação por calor (1). Desde então, inúmeras

modificações e melhoras nas técnicas foram estudadas e o uso de produtos químicos para o clareamento de dentes vitalizados também passou a ser objetivo das pesquisas. O uso do peróxido de carbamida a 10% foi publicado em 1989 por Haywood e Heymann (5), no qual descreveram a técnica de clareamento caseiro, com o uso de um protetor bucal noturno e gel clareador. Diferentemente das demais metodologias utilizadas até então, essa técnica não necessitava do uso de um pré-tratamento da superfície com ácido fosfórico ou uso de qualquer outro ácido para a atuação do gel clareador.

De acordo com o descrito até o momento, o peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida são os agentes mais comumente utilizados na composição dos produtos clareadores (6). Atualmente são comercializados diversos produtos clareadores, que diferenciam-se em concentração e técnicas de aplicação .

As soluções de peróxido de carbamida são muito instáveis e dissociam-se facilmente ao entrarem em contato com o tecido dental ou saliva formando de 3-5% de peróxido de hidrogênio e 7-10% de uréia. Posteriormente, o peróxido de hidrogênio se degradará em oxigênio e água, enquanto a uréia se degradará em amônia e dióxido de carbono (7).

Apesar dos diversos produtos clareadores utilizarem o peróxido de carbamida como ingrediente de sua composição, é de comum conhecimento que o peróxido de hidrogênio é o principal agente ativo das reações que possibilitam o clareamento dos dentes. O seu baixo peso molecular permite que ele se difunda livremente através das estruturas do esmalte e dentina em função da permeabilidade dessas estruturas. (1,7). Trata-se de um forte agente oxidante que atua na formação de radicais livres, moléculas reativas de oxigênio e ânions de peróxido de hidrogênio. Essas moléculas reativas agem nas cadeias longas das moléculas cromóforas, de coloração escura, e degradam-nas em moléculas menores, menos pigmentadas e mais difusíveis (1,8,9)

O mecanismo de ação dos agentes clareadores é baseado num complexo processo de oxidação. O peróxido de hidrogênio, ao entrar em contato com a superfície dental, se decompõe em água e oxigênio nascente, sua forma reativa, que penetra por entre os prismas de esmalte e alcançam a dentina causando uma quebra das moléculas orgânicas (9-11).

Das técnicas utilizadas para o tratamento clareador, três se tornaram o objetivo de estudos dos pesquisadores e são realizadas pelos profissionais da área: o clareamento caseiro, o de consultório e o uso de produtos auto-administráveis. O

clareamento caseiro baseia-se no uso de um agente clareador de baixa concentração e uma moldeira de silicone que deve ser utilizada por um período diário, por aproximadamente 2 semanas ou mais. Já as aplicações em consultório utilizam um peróxido em altas concentrações, como por exemplo, o peróxido de hidrogênio de 25-35%, por um curto período de tempo. O gel clareador é aplicado diretamente sobre os dentes, que devem estar protegidos e isolados, podendo ser ativado por luz ou não. Essa técnica, em alguns casos, pode resultar numa significativa alteração de cor em apenas uma sessão. Os produtos auto-administráveis contém concentrações de agentes clareadores que podem variar de 3% a 6% de peróxido de hidrogênio e são comercializados como gomas de mascar, tiras adesivas clareadoras ou vernizes aplicáveis às superfícies dental, devendo ser utilizados duas vezes ao dia, por pelo menos duas semanas (2).

Dos efeitos adversos clínicos do tratamento clareador os mais relatados pelos pacientes são a sensibilidade dentinária e irritação gengival (12). Contudo, o clareamento também pode resultar em alterações estruturais das superfícies dentais (13). Diversos estudos demonstraram uma influência negativa dos agentes clareadores na integridade das estruturas orgânicas do esmalte, como proteínas (14). Perda mineral (15), aumento da susceptibilidade a erosão e cárie (11, 16), alterações morfológicas (17-19), aumento da rugosidade superficial (20,21) e diminuição da dureza (22-25) são outros aspectos investigados quando se trata do clareamento dental. Alguns estudos não confirmam que existem alterações superficiais do tecido mineralizado, e não há relatos de caso ou estudos clínicos que demonstrem danos macroscópicos e clínicos causados pelos procedimentos clareadores (26).

Dentre as características dos géis clareadores, a diferença de concentração entre os produtos, assim como o pH de cada um, forma de administração e tempo de uso são fatores de variação dos inúmeros estudos relacionados ao procedimento clareador. Além disso, a composição dos mesmos passou a ser investigada, pois de uma forma geral, os produtos clareadores, independentemente de marcas comerciais, são constituídos por peróxidos em diferentes concentrações e agentes espessantes (1). A diferença do produto descrito por Haywood e Heymann (5), denominado Peroxigel, dos demais estava relacionada com a composição química deste, que, além de possuir um peróxido em sua composição, possuía um componente chamado de carbopol. Trata-se de um polímero carboxipolimetileno

muito utilizado como espessante na composição de diversos produtos. No caso dos géis clareadores, ele pode melhorar a aderência do gel à superfície dental e retardar a liberação de oxigênio nascente (7). Entretanto, a composição desse agente espessante caracteriza-o como um ácido poliacrílico, que apesar de possuir um pH neutro, em meio aquoso dissocia-se e passa a ter um pH de aproximadamente 3.0 (15). Além de agir como um composto desmineralizante, este meio ácido criado pelo carbopol propicia a liberação mais lenta do oxigênio porque a degradação dos peróxidos em meios com pH baixos é retardada (15,27).

Como mencionado anteriormente, o peróxido de carbamida tem como subproduto de sua reação a formação de amônia. O pH da amônia facilita o procedimento clareador, pois numa solução alcalina, é necessário menos energia de ativação para a formação de radicais livres do peróxido de hidrogênio (1). Por outro lado, a uréia tem a propriedade de desnaturar proteínas presentes na porção orgânica da estrutura dental, penetrando através do esmalte e afetando não somente a superfície, mas também a porção interprismática do esmalte (28) podendo contribuir para o aumento da rugosidade superficial e alterações estruturais (21).

Com o intuito de tentar reverter os possíveis efeitos indesejados do tratamento clareador, diversos compostos bioativos passaram a ser analisados.

Uma alternativa encontrada para contornar a sensibilidade dentinária ocasionada pelos géis clareadores foi a incorporação de agentes dessensibilizantes nos produtos clareadores. Há controvérsias quanto aos reais benefícios ocasionados por essa alteração na composição, porém, estudos clínicos demonstram que o uso de produtos que contém esses componentes em sua formulação é capaz de diminuir a sensibilidade pós operatória sem diminuir a eficácia do clareamento. (12, 29,30).

Os efeitos benéficos do flúor para a prevenção de cáries e inibição da erosão estão estabelecidos na literatura. Íons de flúor promovem a formação de fluorapatita no esmalte quando da presença de íons cálcio e fosfato produzidos durante a desmineralização do esmalte (31,32). A incorporação do flúor ao mineral dental tem sido a chave da prevenção à cárie. A eficácia da liberação do flúor, a partir de diversos meios, na promoção da remineralização e inibição da desmineralização do esmalte, têm sido amplamente comprovadas (33). É comumente aceito que os benefícios do flúor se relacionam com a sua capacidade de incorporar-se ao conteúdo mineral na forma de fluorapatita ou hidroxiapatita enriquecida com flúor.

Isso significa que, quando o flúor está associado a essas estruturas, a solubilidade do esmalte é menor (33). Seu uso após o clareamento pode ser indicado numa tentativa de minimizar os possíveis efeitos adversos causados pelos peróxidos nas superfícies dentais mineralizadas e tem demonstrado resultados positivos, uma vez que possibilita a proteção da estrutura dental devido a essa reposição dos íons perdidos durante os processos desmineralizadores (20,34-36).

Além do flúor, novos produtos têm sido desenvolvidos com a proposta de reduzir os efeitos desmineralizadores de desafios ácidos aos quais os tecidos dentais mineralizados são submetidos, aumentar a remineralização destes substratos, além de atuar como agentes dessensibilizantes. Dentre eles estão os dentifrícios que contêm compostos como o fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) (37,38) vidro biativo de fosfosilicato de sódio e cálcio (NovaMin®) (39,40), nitrato de potássio e dióxido de titânio (41).

O fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo ou CPP-ACP (Recaldent™) tem sido utilizado em estudos *in vitro* e *in situ* para a remineralização das lesões subsuperficiais do esmalte (30,42).

Os nanocomplexos de CPP-ACP são uma tecnologia baseada na estabilização do fosfato de cálcio amorfo pelos fosfopeptídeos de caseína. O CPP, que contém o agrupamento sequencial –Ser (P) – Ser (P) – Ser(P) – Glu – Glu, estabiliza o ACP numa solução metaestável. Através desse agrupamento sequencial o CPP pode se ligar para formar nanoaglomerados de ACP, prevenindo o seu crescimento ao tamanho crítico necessário para nucleação e fase de transformação (31).

Uma vantagem do ACP é a sua biodisponibilidade, mesmo em pacientes com baixo fluxo salivar, pois o ACP pode se ligar a fluoretos, aumentando assim a captação de flúor e formando uma camada de apatita protetora, na qual os cristais são maiores e mais resistentes a desmineralização.

O CPP-ACP é caracterizado por diminuir o processo de desmineralização da estrutura dental e aumentar a remineralização. Esse processo ocorre porque a caseína, sendo um aminoácido, pode se ajustar em ambientes ácidos. Num meio com pH baixo, o ACP se separa do CPP e aumenta os níveis de cálcio e fosfato biodisponíveis, mantendo assim um meio supersaturado no qual pode-se diminuir a desmineralização e promover a remineralização do esmalte através da deposição de apatita (23,42-44).

O uso dessa nanotecnologia tem sido sugerido para repor os minerais perdidos após o tratamento clareador. A indicação do uso de dentifrícios que contém CPP-ACP em sua composição auxilia na prevenção da rugosidade e dureza do esmalte sem prejudicar a atuação do agente clareador (45).

O fosfosilicato de cálcio e sódio, cujo nome comercial é NovaMin®, é um vidro bioativo que foi inicialmente desenvolvido como material regenerador ósseo e tem sido utilizado nos cuidados da saúde bucal para o tratamento da hipersensibilidade dentinária, através da oclusão física dos túbulos dentinários(40). Estudos recentes demonstram o potencial desse material de prevenir a desmineralização e auxiliar na remineralização da superfície dental (39,46,47).

O mecanismo de ação resulta da interação com o meio aquoso e consequente liberação de íons de cálcio, sódio e fosfato. Num meio aquoso, como a saliva, os íons de sódio das partículas do NovaMin® trocam-se rapidamente com os cátions de hidrogênio (H^+ ou H_3O^+). Essa troca iônica permite que o cálcio e o fosfato sejam liberados da estrutura da partícula. Ocorre um aumento do pH, localizado e momentâneo, que facilita a precipitação dos íons excedentes de cálcio e fosfato, provenientes do vidro bioativo, formando uma camada de fosfato e cálcio (Ca-P) na superfície dental (39). Com a continuidade da reação e da deposição dos complexos Ca-P, essa camada se cristaliza em apatita hidroxicarbonatada (HCA), que é química e estruturalmente semelhante ao mineral natural do dente. (39,46). A combinação das partículas residuais do NovaMin® e a formação dessa nova camada de HCA resulta na remineralização da superfície do esmalte e pode prevenir uma futura desmineralização.

A ação do nitrato de potássio tem sido estudada para o tratamento da sensibilidade dentinária ocasionada pelos tratamentos clareadores. Na presença de um estímulo específico, ocorre a despolarização das fibras sensoriais nervosas nos túbulos dentinários. A consequente repolarização, parte do mecanismo fisiológico, causa a sintomatologia dolorosa. O nitrato de potássio atua prevenindo a repolarização após a despolarização inicial, reduzindo a excitabilidade das fibras nervosas e também diminuindo a capacidade do nervo de transmitir dor (48,49). Contudo, estudos relatam que o uso de agentes dessensibilizantes com nitrato de potássio possuem ação na obliteração dos túbulos dentinários. Ao avaliar um gel dessensibilizante contendo 2% de nitrato de potássio e 2% de fluoreto de sódio, Pinto et al. (50) verificaram, através da análise visual por microscopia eletrônica de

varredura, a oclusão parcial e total dos túbulos. Os autores também utilizaram a detecção de energia dispersiva dos raios-x (EDX) para determinar quais elementos químicos foram depositados próximos aos túbulos e encontraram altos níveis de sódio, magnésio, sílica e potássio. Oberg et al. (51) obtiveram resultados semelhantes ao observarem o uso de géis com 5% e 10% de nitrato de potássio.

Muitas têm sido as formas de análise para uma melhor compreensão dos efeitos dos agentes clareadores no substrato dental. Dos diversos equipamentos utilizados, os autores normalmente combinam as técnicas de avaliação para assim obterem resultados quantitativos e qualitativos. As informações avaliadas dessas duas maneiras, por vezes permite uma correlação de resultados e elucida o entendimento da ação dos componentes químicos. A microrradiografia transversa, tomografia computadorizada, microscopia de força atômica, perfilometria, espectroscopia, uso da fluorescência para quantificação mineral e equipamentos que mensuram a dureza superficial são as metodologias mais relatadas na literatura para o estudo das substâncias químicas clareadoras.

Microrradiografia transversa (TMR)

Em um estudo realizado por Bizhang et al. (52) foi utilizada a microrradiografia transversa para avaliar os efeitos do flúor após a desmineralização causada pelos agentes clareadores. Foram utilizados peróxido de carbamida 10%, e peróxido de hidrogênio a 5,3%. O flúor foi aplicado em forma de um verniz após o tratamento clareador e as análises foram feitas utilizando-se um filme de alta resolução. As microrradiografias foram escaneadas por um sistema digital de análise da imagem conectado a um microscópio e um computador. A distribuição mineral foi avaliada na porção central de cada espécime, onde ocorreu o processo desmineralizador, através da profundidade e perda mineral. A profundidade da lesão foi determinada pela distância da superfície até o ponto em que o conteúdo mineral se assemelhava novamente ao do esmalte hígido. A perda mineral foi calculada pela diferença do conteúdo mineral do esmalte hígido e do esmalte desmineralizado ao longo da profundidade da lesão. Nesse estudo, foi concluído que o uso do flúor pode auxiliar na remineralização da superfície dental.

Tschoppe et al. (36) também utilizaram a microrradiografia transversa para avaliar produtos a base de peróxido de carbamida 10% contendo agentes remineralizantes. Na metodologia aplicada, foram utilizados produtos que contêm flúor e ACP em sua composição. Os resultados demonstraram que o uso do peróxido de carbamida, adicionado ou não de flúor, causou mínimos efeitos na remineralização das lesões subsuperficiais. O gel clareador com ACP apresentou os maiores valores durante a remineralização, porém, o ACP combinado com flúor não se comportou da mesma maneira.

Pretty et al. (53) observaram a formação de lesões subsuperficiais no esmalte após o desafio erosivo realizado nos espécimes clareados. Os peróxidos de carbamida variaram em sua concentração: 10%, 16% e 22% e houve um grupo experimental de peróxido de carbamida 10% com xilitol, flúor e potássio.

Tomografia microcomputadorizada (Micro-CT)

A tomografia microcomputadorizada é uma tecnologia que pode ser utilizada no mapeamento da distribuição mineral de uma forma não destrutiva. Esse método permite a quantificação do conteúdo mineral dos espécimes dentais através da visualização de uma imagem em três dimensões.

Com o intuito de verificar essas modificações estruturais do esmalte causadas pelos dois agentes clareadores mais comuns, o peróxido de hidrogênio a 35% e o peróxido de carbamida a 10%, Tanaka et al. (19) utilizaram a tomografia microcomputadorizada para quantificar e visualizar a densidade mineral, pois esta metodologia fornece uma avaliação da distribuição dos minerais no dente (54). O volume mineral dos espécimes de ambos os grupos diminuíram significativamente. As diferenças micro-estruturais causadas pelos dois agentes clareadores foram distintas, apesar das mudanças nos parâmetros de cor terem sido equivalentes. A modificação de cor causada nos espécimes tratados com clareamento caseiro foi substancialmente afetada pela desmineralização, enquanto que nos espécimes submetidos ao tratamento de consultório dependeram da redistribuição do esmalte e subsequente mineralização. O mesmo foi observado por Efeoglu et al. (55) quando do uso de um agente clareador com peróxido de hidrogênio a 35%. Os autores

concluíram que a aplicação desse agente por duas horas seguidas do armazenamento em saliva artificial por 24 horas podem resultar numa desmineralização que se estende até a profundidade de 250 μm .

Perfilômetro

A avaliação da rugosidade superficial tem sido o foco de muitas pesquisas relacionadas com as alterações superficiais do substrato dental. Nos últimos anos, o uso do perfilômetro tornou-se comum nos ensaios laboratoriais com esse objetivo.

Cavalli et al. (21), através da perfilometria, mensuraram a rugosidade superficial antes e após o clareamento. Nesse estudo, os peróxidos de carbamida aplicados nos espécimes possuíam altas concentrações (35 e 37%) e permaneceram em contato com a estrutura dental por 30 minutos. A rugosidade foi alterada significativamente nos dois grupos experimentais. Os autores também verificaram essas alterações qualitativamente, utilizando fotomicrografias dos grupos controle e níveis experimentais. No grupo controle, nenhuma alteração foi observada, entretanto nos espécimes tratados foram observados o acometimento das estruturas interprismáticas e aumento da porosidade.

Pinto et al. (23) também utilizaram esse equipamento com o mesmo propósito. Dentro da metodologia utilizada por eles, houve um aumento nos valores de rugosidade quando da utilização de diferentes produtos clareadores (tabela 1), porém o PH 35% apresentou os maiores valores dessa variável. O mesmo foi relatado por Azrak et al. (56), todavia, seu estudo objetivou a análise do substrato dental clareado submetido a um desafio erosivo. Os autores afirmam que as altas concentrações de peróxidos e baixos valores de pH dos mesmos podem causar diferenças na rugosidade.

Contrariamente ao apresentado, Mielczarek et al. (57) não observaram mudanças na superfície dos espécimes submetidos a tratamentos clareadores com peróxido de hidrogênio a 14%, 20% e 28%. Quando foram utilizados peróxidos de carbamida a 35% e 38%, em um estudo *in vivo*, no qual foram confeccionadas réplicas da superfície dental em resina epóxi Cadenaro et al. (58) também não encontraram diferenças estatisticamente significantes em seu estudo. Em 2010, os

autores realizaram outro estudo (59) com a mesma metodologia e os resultados foram semelhantes ao apresentado. Faraoni-Romano et al (60) relatam em seu estudo que não houveram diferenças na rugosidade superficial do esmalte dental clareado submetido a tratamentos com peróxido de carbamida 10% e peróxido de hidrogênio 7,5% e 38%, nem na combinação de produtos aplicados em um grupo experimental, no qual os géis consistiam em peróxido de carbamida 22% e peróxido de hidrogênio 18%.

Para avaliar os efeitos terapêuticos do flúor no esmalte dental clareado, Martin et al. (61) utilizaram um perfilômetro após a aplicação do flúor na superfície dental. O uso do peróxido de carbamida 16% e do de hidrogênio 35% causaram um aumento na rugosidade. Os grupos que receberam pré tratamento com flúor e pré-pós tratamento com o mesmo íon demonstraram uma diminuição dos valores de rugosidade. O uso de flúor diariamente ou semanalmente não apresentou resultados diferentes do grupo controle.

Espectroscopia

A espectroscopia tem sido amplamente utilizada para analisar os efeitos do tratamento clareador. Trata-se de uma técnica de alta sensibilidade para a identificação dos íons em amostras líquidas, sólidas ou gasosas.

A espectroscopia de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) foi utilizada por Al-Salehi et al. (62) para quantificar a perda dos íons da estrutura dental após uma aplicação única de agentes clareadores a base de peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações e verificaram que quanto maior a concentração do peróxido, maior a liberação de íons. Além disso, a liberação dos íons de cálcio foi maior que a dos íons de fósforo.

Andrade (27) utilizou a espectrofotometria de emissão atômica induzida por plasma acoplado para avaliar a perda do conteúdo mineral ocorrida durante o clareamento de auto-aplicação. Foram utilizados produtos em diferentes concentrações e pH's, porém todos tinham o peróxido de hidrogênio como agente ativo, e foi verificado que essa técnica pode causar a perda de íons de cálcio e fósforo. O pH dos agentes clareadores pode influenciar na quantidade de perda

mineral: quanto menor o pH, maior é a perda ocorrida após o clareamento, porém a concentração dos peróxidos de mesmo pH não influenciou na quantidade de íons perdidos.

Bistey et al. (18) descreveram as alterações do esmalte após o tratamento com soluções de peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações (10-30%) utilizando a espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FT-IR). Os espécimes apresentaram um espectro de infravermelho característico em dois picos distintos, representando a estrutura da hidroxiapatita. Esses picos relacionam-se aos comprimentos de onda do fosfato (PO_4) antes do tratamento com peróxido de hidrogênio. Um segundo pico foi observado no comprimento de onda de 886 cm^{-1} , que representava o carbonato da apatita (CO_3) do esmalte. As alterações superficiais do esmalte, observadas pela espectroscopia FT-IR, ocorreram em todos os grupos experimentais, sendo estas diretamente proporcionais ao tempo de tratamento e concentração do peróxido. Severcan et al. (63) também observaram as mudanças estruturais causadas pelos agentes clareadores caseiro e de consultório, e relataram que as alterações causadas por altas concentrações de peróxido podem ser deletérias.

A espectroscopia da energia dispersiva dos raios-x (EDS) permitiu que Souza et al. (64) monitorassem as alterações causadas pelo peróxido de hidrogênio a 35%. As sessões consecutivas do procedimento clareador podem levar a mudanças na morfologia e em elementos específicos, com consequente diminuição do percentual de íons de cálcio. Tezel et al. (65) já haviam demonstrado que peróxidos de hidrogênio 35% e 38% podem causar maior perda dos íons de cálcio. Esses resultados foram obtidos com o uso do espectrofotômetro de absorção atômica.

Vieira et al. (66) utilizou o espectrofotômetro para avaliar a translucidez do esmalte após o tratamento da superfície com peróxido de carbamida 10%, por 8 horas diárias, durante 28 dias, e constatou que houve uma diminuição da translucidez em todos os espécimes, tornando-se mais opacos.

Cavalli et al. (67) tentaram determinar se a adição de flúor e cálcio no peróxido de carbamida 10% pode diminuir a perda mineral da superfície e subsuperfície do esmalte. Os espécimes receberam aplicações de géis de 3 diferentes marcas comerciais e 2 géis foram manipulados, um contendo 0.2% de cálcio e outro 0.2% de flúor. A espectroscopia Raman com transformada de Fourier

resultou numa diminuição do conteúdo mineral de todos os tratamentos, com consequente aumento da profundidade da lesão.

Quantificação mineral por fluorescência induzida

Muitas dessas metodologias necessitam de um polimento inicial dos espécimes para que as análises possam ser acuradas. Esse polimento remove a camada aprismática do esmalte que é hipermineralizada, contém fluorapatita e é mais resistente aos processos desmineralizadores (68).

A quantificação mineral por meio da fluorescência do elemento dental (QLF™) foi inicialmente desenvolvida para estudos relacionados com a detecção de lesões incipientes de cárie através de métodos ópticos (69). Espalhamento e absorção da luz são os principais fatores no efeito de fluorescência. O efeito de espalhamento no surgimento de manchas brancas observado pela fluorescência induzida por luz é aumentado pela natureza fluorescente da dentina também pela junção amelo-dentinária. A presença dessas estruturas abaixo do esmalte é necessária para o fornecimento de contraste suficiente da fluorescência entre esmalte sadio e esmalte lesionado.

A estrutura dental auto-fluoresce quando é incidida por um comprimento de luz específico. Quando há um processo desmineralizador essa fluorescência é menor do que na estrutura sadia e são apresentadas como áreas escurecidas pelo aplicativo do QLF™. A perda da fluorescência, característica da desmineralização, pode ser comparada com a fluorescência das áreas híidas do mesmo elemento dental, sendo reportado assim um valor específico, denominado ΔQ .(69)

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

tecido, capta a fluorescência produzida no tecido iluminado, produzindo imagens do substrato dental. As imagens, capturadas em câmara escura, podem ser armazenadas no disco rígido da unidade principal do equipamento QLF™ e analisadas por meio do aplicativo do equipamento (Inspektor™PRO, Inspektor Dental Care, Amsterdam, NL) quanto à área da lesão (mm²) e profundidade da lesão expressa em percentual de perda de fluorescência do tecido (ΔF em %). O volume da lesão (ΔQ em mm² %) é o índice final relativo ao valor de perda mineral do substrato analisado (15,47, 70).

Estudos recentes demonstram o uso do QLF™ para a avaliação da superfície dental após o tratamento clareador: é possível comparar-se áreas da estrutura dental clareada e não clareada da mesma maneira que a estrutura desmineralizada e sadia. Entretanto, a maioria desses estudos utiliza o QLF *in vitro* ou *in situ*, pois para a avaliação das áreas manchadas e clareadas é necessária a comparação das mesmas com o esmalte hígido (71,72).

Esse método, por não ser destrutivo (69), permite a realização de um experimento longitudinal: registro das modificações superficiais em diferentes momentos de análise. Nesses casos, após o registro inicial (baseline), o posicionamento da imagem deve ser observado: as imagens subsequentes devem estar o mais próximo possível da posição original. As alterações superficiais causadas pelos processos desmineralizadores e remineralizadores podem assim ser monitorados.

No estudo citado anteriormente, realizado por Pretty et al. (69), foi realizada a análise através do QLF. O equipamento detectou a erosão em todos os grupos de tratamento, e não houveram diferenças entre o grupo controle e os grupos de tratamento. Lesões semelhantes à cárie foram detectadas em todos os grupos.

Mensuração da dureza superficial através da nanoidentação

As estruturas dentais mineralizadas são compostas por cristais de cálcio e fosfato, hidroxiapatita primária, proteínas e água em diferentes concentrações. As propriedades mecânicas podem variar em função das taxas desses componentes e da composição estrutural dos mesmos (73).

O esmalte dental é a estrutura mais calcificada do corpo humano, sendo constituído por 95% de minerais (em grande parte, hidroxiapatita), 4% de água e 1% de material orgânico (74). É organizado em prismas que possuem de 3-6 µm de diâmetro e são formados por cristais de hidroxiapatita com espessura média de 26,3 nm e comprimento de 68,3 nm (74,75). Na região mais superficial do esmalte, há uma camada de aproximadamente 100 µm de espessura onde o mesmo é classificado como aprismático pois os cristais estão organizados paralelamente entre si e perpendicularmente ao plano basal, geralmente mais mineralizado do que as camadas subsuperficiais. Já na região onde o esmalte é prismático, os cristais possuem uma orientação irregular nas terminações dos prismas, o que confere ao esmalte uma característica anisotrópica.(75).

As propriedades mecânicas dos dentes podem sofrer alterações devido à exposição a agentes químicos, inclusive soluções comumente utilizadas para o armazenamento dos dentes em estudos *in vitro* ou *in situ* (76). Recentemente, estudos indicam que o peróxido de hidrogênio pode alterar o comportamento mecânico dos dentes (73,77-80) devido ao mecanismo de ação dos agentes clareadores.

O teste mais utilizado nos últimos anos para a avaliação superficial do esmalte dental clareado tem sido a dureza através da microidentação. Diversos autores utilizam a indentação Knoop ou Vickers para avaliar a perda mineral causada pelos agentes clareadores, porém, essa metodologia necessita da planificação e polimento prévio dos espécimes, o que pode ocasionar a perda da camada aprismática do esmalte dental.

O ensaio de indentação instrumentada (EII), também denominado nanoidentação, tornou-se uma técnica conhecida para a realização de testes mecânicos em tecidos duros (76,77,79,81-83). É caracterizado pela indentação em uma área muito estreita, o que permite um maior número de marcações num mesmo espécime, além da precisa seleção da área a ser analisada (79). Trata-se de um método que pode ser representativo quando o material analisado é homogêneo ou específico de uma região discretamente alterada, quando não homogêneo (77).

Essa técnica é promissora, uma vez que permite a determinação e comparação do módulo de elasticidade (ou módulo de Young) e dureza em diferentes regiões, tanto do esmalte quanto da dentina, numa escala micro e até nanométrica (77).

O teste mensura a resposta mecânica dos materiais, na região em que a carga é aplicada, através de um pequeno indentador. Se o material possui uma microestrutura variável, ou se a mesma se altera conforme o indentador aprofunda-se, as propriedades mensuradas mudam, como por exemplo, no caso de materiais cristalinos. Dessa forma, cada indentação do teste mensura as propriedades do esmalte correspondente a um nível de carga ou profundidade, pois os valores de dureza e o módulo de elasticidade são medidos utilizando-se uma parte da curva de descarregamento da carga ou pela mensuração da área da marcação residual do indentador (84).

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo foi conduzido na intenção de verificar os diferentes resultados apresentados na literatura quando da ação dos agentes clareadores na dureza do esmalte dental e fluorescência. Além disso, também foi verificada a influência dos dentifrícios contendo diferentes compostos bioativos na ultradureza e no conteúdo mineral das superfícies de esmalte dental humano submetido ao tratamento clareador.

4 DISCUSSÃO

Desde a introdução da técnica de clareamento dental apresentadas por Haywood e Heymann (5) muitas modificações foram feitas, como o uso de diferentes concentrações de peróxido de carbamida, que atualmente podem ser de 10 a 22% e do peróxido de hidrogênio, de 5 a 10%, para o uso em moldeiras individualizadas. O protocolo inicial preconizava o contato direto do agente clareador com a superfície dental por um período de aproximadamente 8 horas por 6 semanas, o que posteriormente foi modificado por protocolos mais rápidos que recomendam o uso por um período de aplicação diária menor, podendo variar de 1 a 4 horas (85). Essa exposição de tempo menor é possível graças ao aumento da quantidade de substância ativa em contato com o esmalte durante a primeira hora de aplicação. A degradação de 30 a 40% dos agentes clareadores se dá nas primeiras 4 horas de aplicação, na qual são liberados os radicais livres que irão degradar os anéis de carbono (benzênicos) de alto peso molecular em cadeias saturadas menores e mais leves (7).

Tanto o composto do agente clareador quanto a concentração deste podem influenciar nas alterações do esmalte dental (68). As diferentes mudanças ocorridas na técnica do clareamento dental não proporcionaram somente o aumento da concentração dos peróxidos, mas também um prolongamento do período total de tratamento, apesar do período de aplicação diária ser menor. Borges et al. (86) relatam que os efeitos do clareamento na microdureza provavelmente estão relacionados ao pH do gel e este está diretamente envolvido nas alterações da matriz orgânica do esmalte ocorrem devido a ação química do peróxido de hidrogênio. O forte efeito oxidante do peróxido de hidrogênio na matriz orgânica caracteriza uma das principais modificações estruturais ocasionadas pelo clareamento dental, e isso provavelmente pode ser intensificado pelo baixo pH de alguns agentes clareadores, causando diferenças na composição mineral e diminuindo a dureza do esmalte e dentina (14,23,86). Já a desmineralização e perda de íons cálcio são alterações que ocorrem na composição inorgânica do tecido mineralizado, podendo por vezes ser passível de remineralização (54,62,87).

Alguns estudos sugerem que as alterações ocorridas não estão relacionadas somente com a forma de aplicação do peróxido (88,89). Algumas pesquisas

demonstraram em ensaios *in vitro* e *in situ* que o tratamento com o carbopol pode causar uma diminuição na microdureza (89). O uso do espessante foi avaliado por Rodrigues et al. (90) durante ensaios de dureza com o indentador Knoop, no qual utilizaram o peróxido de carbamida 10% na aplicação dos grupos experimentais, por um período de 6 horas, e em outro utilizaram o carbopol como tratamento da superfície de esmalte pelo mesmo intervalo de tempo. Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos com relação a microdureza, sendo este resultado relacionado com a ação da saliva artificial utilizada para o armazenamento dos espécimes durante a fase laboratorial. Soldani et al. (91) verificaram o uso do carbopol e de um outro espessante, o poloxamer. Os grupos experimentais foram distribuídos da seguinte forma: peróxido de carbamida 10% + carbopol, carbopol gel 2%, peróxido de carbamida 10% com poloxamer, poloxamer e tiras adesivas contendo peróxido de hidrogênio 6,5% e todos os grupos apresentaram uma diminuição nos valores de microdureza.

Além disso, a uréia, subproduto da reação de degradação do peróxido de carbamida, pode contribuir com o aumento da permeabilidade do esmalte e causar modificações microestruturais. O oxigênio liberado da decomposição do peróxido de carbamida também é capaz de aumentar a porosidade da superfície dental. Os radicais livres do oxigênio não são específicos e podem reagir com estruturas orgânicas dos tecidos mineralizados (92).

A análise mais utilizada para a avaliação da perda do conteúdo mineral e das alterações superficiais causadas pelo tratamento clareador é a microdureza. Na tabela 4.1 é possível visualizar alguns artigos que usufruíram de diferentes agentes clareadores e compreender, de uma forma geral, a metodologia utilizada para análise da dureza superficial.

ANO	AUTORES	AGENTE CLAREADOR	TEMPO DE APLICAÇÃO DO GEL CLAREADOR	ARMAZENAMENTO	SUBSTRATO; TESTE DE DUREZA	ALTERAÇÕES	EFEITO DO AG. REMINERALIZADOR
2009	Sasaki et al. (28)	PC 10% e PH 7.5%	1 hora/dia por 21 dias	Saliva artificial	molares humanos; MD Knoop	não	-
2007	Zantner et al. (68)	PC 8%, 10% e PH 5.9%	Variaram de acordo com o grupo experimental	Saliva artificial	incisivos humanos; MD Knoop	sim	-
2007	Al-Salehi et al. (62)	PH 3%, 10% e 30%	Aplicação única: 24 horas	Água destilada	incisivos bovinos; MD Vickers	sim	-
2003	Basting et al. (88)	PC 10%, 15%, 16% e 22% PC 20% + F	8 horas/ dia por 42 dias	Saliva artificial	molares humanos; MD Knoop	sim	produtos contendo fluoretos podem resultar em efeitos menos danosos no conteúdo mineral
2004	Pinto et al. (23)	PC 10%, 35%, 37% e PH 7.5%, 35%	Variaram de acordo com o grupo experimental	Saliva artificial	molares humanos; MD Knoop	sim	-
2010	Cavalli et al. (24)	PC 10% PC 10% + F PC 10% + Ca	6 horas/dia por 14 dias	Saliva artificial	molares humanos; MD Knoop	sim	Ambos os íons F e Ca promoveram valores de dureza maiores do que aqueles que não possuíam agentes remineralizadores.
2010	Abouassi et al. (6)	PC 10%, 35% e PH 3,6%, 10%	2 horas a cada 2 dias, por 2 semanas	Saliva artificial	incisivos bovinos; MD Knoop	não	-
2008	Maia et al. (93)	PC 10% e PH 7.5%	1 hora/dia por 21 dias	<i>in situ</i>	molares humanos; MD Knoop	não	
2005	Oliveira et al. (34)	PC 10% PC 10% + Ca (0.05%, 0.1%, 0.2%) PC 10% + NaF (0.2%, 0.5%)	6 horas/dia por 14 dias	Saliva artificial	molares humanos; MD Knoop	sim	Peróxidos contendo fluoreto ou cálcio não evitaram a perda mineral
2005	Rodrigues et al. (89)	PC 10%, PC 37%, placebo (carbopol)	Variaram de acordo com o grupo experimental	<i>in situ</i>	molares humanos; MD Knoop	sim	
2007	Metz et al. (94)	PC 15% PC 15 + F + NP	8 horas/ dia por 14 dias	<i>in situ</i>	premolares humanos	não	n.e.s.
2011	Pinheiro e Cardoso (95)	PC 15%, 16% PH 7,5% + Ca PH 7,5% + Ca e PO4	Variaram de acordo com o grupo experimental	Saliva artificial	incisivos bovinos MD Knoop	sim	não houveram alterações ao longo do experimento.
2012	Magalhães et al. (96)	PH 35%	Variaram de acordo com o grupo experimental	Saliva artificial	incisivos bovinos; MD Vickers	sim	
2008	Chen et al. (97)	PC 10% PC 10% + aplicação tópica de F PC10%+ F(0.11%) PC10%+ F(0.37%)	8 horas/dia por 14 dias	Saliva artificial	incisivos bovinos; MD Vickers	sim	Compostos com flúor apresentaram uma menor perda de MD. Aplicação tópica não foi capaz de impedir a diminuição da MD
2008	Mielczarek et al. (57)	PH 14%, 20% e 38%	Variaram de acordo com o grupo experimental	Saliva artificial	premolares humanos; MD Vickers	não	
2011	Smidt et al. (98)	PC 16% e 15%	Variaram de acordo com o grupo experimental	<i>in situ</i>	molares humanos; MD Knoop	não	
2011	Cavalli et al. (67)	PC 10% PC 10% + Ca (0.2%) PC 10% + F (0.2%)	6 horas/dia por 14 dias	Solução remineralizante	dentes humanos; MD Knoop	sim	também apresentaram diminuição nos valores de dureza

PC: Peróxido de Carbamida; PH: Peróxido de Hidrogênio; Ca: Cálcio; F: Flúor; MD: microdureza

Tabela 1: Artigos que avaliaram a microdureza de alguns agentes clareadores

Dentre os diferentes resultados apresentados na literatura, as metodologias *in vitro* não são capazes de simular totalmente o comportamento físico-químico do meio bucal. As divergências das pesquisas podem também ser ocasionadas devido aos diferentes meios de armazenamento dos espécimes durante a fase experimental. Muitos autores verificaram que o uso da saliva artificial como solução de armazenamento é capaz de reverter algumas modificações ocorridas durante o processo desmineralizador (23,68,88). A saliva artificial atua como um tampão e possibilita o restabelecimento das condições bucais quando há um desequilíbrio entre a desmineralização e a remineralização. Sasaki et al. (28) observaram que houve um aumento nos valores de microdureza nos grupos experimentais de seu estudo após uma hora da aplicação do gel clareador, e o mesmo foi observado no grupo controle negativo, que não recebeu nenhum tratamento na superfície.

Em alguns estudos, os autores analisaram os agentes clareadores que possuem agentes remineralizantes em sua composição, como os peróxidos de carbamida fluoretados, que podem reduzir a perda da microdureza e acelerar sua recuperação numa fase de pós tratamento (99). Isso ocorre devido ao fato dos clareadores fluoretados induzirem a aquisição de flúor no esmalte (26). Basting et al. (88) utilizaram um gel de peróxido de carbamida 20% com 3% de nitrato de potássio e 0.11% de íons de fluoretos. Esse grupo foi o que apresentou as menores diferenças nos valores de microdureza, quando comparado com os demais grupos e o controle. O mesmo foi observado por Cavalli et al. (24) que avaliaram a ação dos clareadores caseiros adicionados de flúor ou cálcio. Contrariamente a esses achados, Oliveira et al. (34) não encontraram efeitos positivos quando da adição de agentes remineralizadores como cálcio e fluoretos em diferentes concentrações ao peróxido de carbamida 10% durante a análise de microdureza superficial da estrutura. Porém, isso não significou que os íons não apresentaram nenhum efeito no esmalte. Os autores relatam que a principal característica do flúor para inibir a perda mineral e auxiliar a remineralização é estar presente em baixas e constantes concentrações no meio bucal. Dessa forma, apesar de não atuar prevenindo a desmineralização, a presença de flúor contribuiu para que este processo não fosse mais agressivo. Metz et al. (94) alegam que, do compreendido atualmente sobre a incorporação de flúor no esmalte, esse íon necessita de condições saturadas que favoreçam a sua incorporação assim como a presença de sítios disponíveis de nucleação para os novos minerais.

De acordo com uma revisão sistemática realizada por Attin et al. (26), o uso de compostos fluoretados, como vernizes e dentifrícios, concomitantemente ao tratamento clareador pode auxiliar no restabelecimento dos valores de microdureza. Em 2006, o mesmo autor (100) avaliou a influência do peróxido de carbamida na captação de flúor pelo esmalte dental. Os resultados desse estudo indicaram que a fluoretação do esmalte dental clareado é melhor realizada pela aplicação de um gel fluoretado após o tratamento clareador do que um peróxido adicionado de fluoretos.

Os dentifrícios fluoretados se consagraram dentre os produtos relacionados à saúde bucal devido à sua capacidade de incorporar íons de flúor na placa e no esmalte dental. Esses íons imediatamente promovem a formação de fluorapatita na presença dos íons de cálcio e fosfato produzidos durante a desmineralização do esmalte dental pelos ácidos orgânicos da placa bacteriana (32).

Wiegand A et al. (101) demonstraram que o uso de dentifrícios fluoretados após a ação do peróxido de carbamida a 10% podem evitar a diminuição da microdureza. Em um estudo *in vitro*, os pesquisadores utilizaram peróxido de carbamida 10% durante oito horas por dia, durante 14 dias. Os grupos foram distribuídos dentre os diferentes regimes de aplicação de flúor (Tabela 5.2).

Group	Pre-bleaching Period (day 1-14)	Bleaching Period (day 15-28)	Post-bleaching Period (day 29-42)
A	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste -	F-toothpaste -
B	F-toothpaste -	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste -
C	F-toothpaste -	F-toothpaste -	F-toothpaste F-Gel
D	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste -
E	F-toothpaste -	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste F-Gel
F	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste -	F-toothpaste F-Gel
G	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste F-Gel	F-toothpaste F-Gel
H	F-toothpaste -	F-toothpaste -	F-toothpaste -
I	-	-	-

Tabela 5.2: Grupos experimentais de Wiegand et al. (101)

Após análise da microdureza superficial, foi concluído que a aplicação regular de dentifrícios fluoretados é suficiente para evitar a perda da microdureza durante o tratamento clareador. A suplementação com uso de flúor gel não é superior ao uso do dentifrício sozinho, e, além disso, o período de aplicação do gel flúor não influenciou nos resultados.

O uso de dentifrícios para a manutenção da higiene bucal é amplamente recomendado, pois a principal característica de sua indicação é a prevenção à cárie. Entretanto, a sensibilidade dentinária causada por diversos processos erosivos tem se tornado uma sintomatologia comumente relatada, e por isso o uso de novos componentes bioativos tornou-se o alvo de muitos estudos.

Uma vez que o processo químico também é caracterizado pela desmineralização do substrato dental é possível objetivar experimentos que verifiquem os efeitos desses compostos no tecido dental mineralizado submetido ao tratamento clareador.

Kato et al. (102) utilizaram dentifrícios a base de nitrato de potássio em seu estudo para avaliar o poder preventivo deste com relação à erosão e verificar se o uso isolado deste e do flúor são mais eficazes do que a combinação de ambos. Dentre os dentifrícios utilizados, um é comercialmente produzido e possui fluoreto de sódio e nitrato de potássio 5% em sua composição, e dois foram dentifrícios experimentais, também a base de nitrato de potássio 5% e o mesmo componente adicionado de flúor. A análise foi com o uso de um perfilômetro que mensurou a profundidade erodida. O dentifrício disponível no mercado não demonstrou diferenças estatisticamente significantes quando comparado com o grupo controle. Dos dentifrícios experimentais, o que possuía somente nitrato de potássio na formulação foi capaz de reduzir a erosão. Já a combinação de flúor com o composto dessensibilizante não apresentou o mesmo resultado.

Tay LY et al. (103) verificaram, em um estudo clínico, que o uso de um gel dessensibilizante, contendo 5% de nitrato de potássio e 2% de fluoreto de sódio, antes do procedimento clareador, pode diminuir a incidência e a intensidade da sensibilidade sem diminuir a eficácia do clareamento de consultório, utilizando peróxido de hidrogênio a 5%. Outro estudo (48) avaliou a atuação do nitrato de potássio antes do tratamento clareador acelerado por luz, e os resultados foram semelhantes aos obtidos pelos pesquisadores mencionados. Porém, ainda não

foram avaliados os reais efeitos que os dentifrícios contendo nitrato de potássio possam ter na superfície do esmalte dental.

O CPP-ACP tem apresentado um potencial anticariogênico quando avaliado *in vitro* e *in situ* (104). As soluções desse composto também têm apresentado efeitos na remineralização de lesões subsuperficiais no esmalte. Atualmente muitos estudos avaliam o mecanismo de ação do CPP-ACP nos processos erosivos de forma preventiva ou terapêutica.

Para verificar se os dentifrícios com CPP-ACP podem prevenir a erosão dental causada por bebidas ácidas, Poggio et al. (105) elaboraram um experimento com dentes incisivos humanos. Os autores distribuíram os espécimes em três grupos, nos quais dois foram realizados os tratamentos isolados (ou a imersão em refrigerante ou eram cobertos com o agente remineralizante, sem escovação) e um a combinação de ambos os tratamentos. Os resultados foram conclusivos de que a aplicação dos dentifrícios contendo CPP-ACP são eficazes na prevenção da erosão dental causada por refrigerantes.

Rees et al. (106) realizou um estudo para comparar dois produtos que são indicados para a prevenção da erosão. Os autores utilizaram um dentifrício que possui CPP-ACP e outro com altos níveis de flúor biodisponível e nitrato de potássio. Após a aplicação única desses dentifrícios os espécimes foram submetidos a um desafio erosivo por 1 hora. Das comparações estatísticas realizadas os dois dentifrícios foram capazes de prevenir a erosão dental, não havendo diferença estatística entre os dois grupos.

Assim como o flúor, esses dois compostos também foram adicionados em diferentes peróxidos. Comercialmente a incorporação destes é relacionada com a atuação na obliteração ou deposição de íons para alívio da sensibilidade dentinária causada pelo tratamento clareador. Porém, alguns artigos avaliaram os efeitos que esses suplementos podem causar nas propriedades superficiais do esmalte. Abreu et al. em 2011 (9) avaliaram a influência do CPP-ACP incorporados no peróxido de hidrogênio 7,5% e 9,5% na microdureza superficial do esmalte. Os agentes clareadores foram aplicados de acordo com as recomendações dos fabricantes e avaliados quanto à microdureza, com identador Knoop, e, após o período de tratamento, foi verificada a diminuição dos valores de microdureza em todos os grupos. A mesma foi restabelecida após o período pós-tratamento, no qual os espécimes ficaram imersos em saliva artificial. Os efeitos benéficos que o ACP

poderia apresentar só foram verificados nos agentes clareadores de baixas concentrações quando associados com a saliva artificial.

Também é possível o uso dos dentifrícios que contém CPP-ACP na superfície dental para tentar reverter os efeitos do tratamento clareador. Borges et al. (43) testaram uma modificação na técnica de auto aplicação através da mistura de um dentifrício contendo esse composto bioativo com o gel clareador. Para isso, os autores realizaram um manchamento prévio dos elementos dentais de sua pesquisa com o intuito de verificar a eficácia do tratamento clareador modificado. Após o manchamento, os espécimes foram submetidos a aplicação de géis clareadores da forma convencional e de soluções preparadas com os géis e o dentifrício. Os agentes clareadores utilizados foram o peróxido de carbamida a 10 e 16%. Os resultados obtidos demonstraram que a microdureza superficial foi aumentada no período pós-tratamento e a modificação da técnica não prejudicou a eficácia do tratamento clareador. Entretanto, faz-se necessário um estudo para avaliar se essa alteração na técnica pode ser aplicada em todos os agentes clareadores.

Gjorgievska e Nicholson (46) objetivaram determinar os efeitos do clareamento na estrutura do esmalte dental e o potencial do vidro bioativo NovaMin®, presente em dois dentifrícios, para remineralizar as regiões do esmalte dental clareado. Para esse estudo foi utilizado o peróxido de carbamida 16% aplicado à superfície de terceiros molares humanos, durante 8 minutos, por 7 dias. Dentre os dentifrícios utilizados nos tratamentos um continha 5,5% do vidro bioativo e o outro 7%. A aplicação dos agentes remineralizadores se deu após o clareamento, pelo mesmo intervalo de tempo. Os espécimes foram analisados qualitativamente através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) e quantitativamente pela detecção de energia dispersiva dos raios-x (EDX) e demonstraram que o agente clareador pode causar alterações superficiais morfológicas, porém um tratamento remineralizador pode reparar as mesmas. Houve a formação de uma camada de vidro bioativo e um aumento no conteúdo de cálcio e fosfato no esmalte, assemelhando-se ao substrato não clareado. Dos dentifrícios avaliados o que continha 7% de NovaMin® apresentou melhores resultados.

Shimaoka (2010) (47) avaliou o uso dos compostos CPP-ACP e NovaMin®, associados ou não ao flúor, após diferentes graus de severidade de desafios ácidos. De acordo com os resultados obtidos pela autora, nenhum dos tratamentos remineralizadores proposto foi capaz de reverter totalmente os valores da análise.

Entretanto, o tratamento que apresentou maior potencial remineralizador no esmalte dental foi o CPP-ACP adicionado de flúor.

Apesar de a microdureza ser um método estabelecido na literatura para a avaliação do conteúdo mineral essa técnica não é capaz de mensurar sítios específicos da superfície dental, permitindo somente a análise do substrato como um todo e não auxilia na compreensão do mecanismo de perda mineral causada pelo agente clareador e da deposição dos diversos íons ou complexos dos agentes remineralizadores. Além disso, a microdureza realiza uma análise superficial da estrutura, e não demonstra os efeitos subsuperficiais que os agentes clareadores podem ocasionar. O uso de novos equipamentos para o estudo das alterações superficiais do esmalte dental tem sido empregado em diversas metodologias, e muitas delas estão relacionadas com os processos erosivos e lesões incipientes de cárie.

Dentre as novas técnicas a quantificação da fluorescência induzida por luz apresenta muitas vantagens relacionadas aos parâmetros utilizados para a análise e a facilidade de uso durante as diferentes metodologias em que pode ser utilizado (70). Apesar disso, a avaliação do conteúdo mineral pelo uso do QLF necessita que os espécimes sejam preparados de uma maneira específica, para assim assegurar os resultados obtidos. Dentre esses cuidados, pode-se mencionar a realização de uma janela expositiva para o tratamento da superfície de esmalte e preservação de uma área hígida que não sofra nenhum tipo de tratamento, para que o aplicativo possa ter uma referência para o cálculo dos valores. Rousseau et al. (107) realizaram um estudo no qual objetivaram verificar a contribuição da dentina subjacente a da junção amelo-dentinária para a mensuração da perda mineral do esmalte através do QLF. Os autores concluíram nem a dentina nem os componentes da junção amelo dentinária afetam a análise da perda mineral pelo equipamento. Esses resultados tornam-se questionáveis, uma vez que o QLF avalia a autofluorescência do dente e as substâncias que causam essa excitabilidade à luz estão presentes na dentina. Outro estudo realizado por Ando et al. (108) verificou se a espessura do esmalte pode influenciar na quantificação da fluorescência quando lesões brancas estão presentes no esmalte. Após a análise dos resultados, os autores relatam que a radiação de fluorescência do esmalte hígido é significativamente relacionada com a espessura do esmalte, havendo assim a necessidade de uma padronização da mesma.

Pretty et al. (69) avaliaram o uso do QLF para quantificar a remoção de manchas e para isso utilizaram produtos clareadores em fase de teste. Os espécimes utilizados por eles foram armazenados em recipientes imersos num preparado contendo saliva, um enxaguatório bucal a base de clorexidina e chá, para poderem estabelecer o manchamento dos corpos de prova. Utilizaram um dentífrício comum para o controle positivo, água destilada como o controle negativo, e um dentífrício clareador, ainda em fase de testes. A remoção do manchamento pode ser melhor avaliada pelo QLF devido a sua capacidade de registrar a redução das manchas, longitudinalmente, após os testes. Além disso, o aplicativo do QLF permite a visualização da involução das manchas e a quantificação da ação dos produtos em análise.

Dentre os métodos de análise ópticos, os autores mencionam que o QLF possui muitas vantagens. Uma delas está relacionada com o fato do equipamento utilizar a auto-fluorescência do dente para produzir as imagens no computador. Por não haver necessidade de se utilizar um flash, diminuindo a variabilidade das imagens adquiridas nos diferentes momentos e aumentando a confiabilidade do teste (69).

Andrade (15) realizou um monitoramento *in situ* dos processos de desmineralização e remineralização durante o tratamento clareador. Para a avaliação da perda mineral em diferentes momentos foi utilizado o QLF. Foi utilizado um gel clareador de aplicação de consultório e dois auto administráveis, um contendo ACP em sua composição e outro não. Para essa análise, foram utilizados os valores de ΔQ fornecidos pelo equipamento. Os agentes clareadores com diferentes composições químicas causaram diferentes níveis de desmineralização no substrato dental e o composto ACP presente em um dos géis foi capaz de reduzir a perda mineral durante o tratamento clareador.

Adeyemi et al. (72) realizaram um estudo no qual compararam a técnica da quantificação da fluorescência por luz induzida com o uso do espectrofotômetro para a avaliação do manchamento e clareamento da superfície dental. Foram utilizados dentes bovinos que foram submetidos a um pré tratamento que consistia no manchamento da superfície dental e um tratamento clareador dos mesmos espécimes. As duas análises foram registradas e os autores verificaram que há uma alta correlação entre as duas técnicas. Nesse estudo também foi verificado a

capacidade do QLF de monitorar o manchamento intrínseco e a remoção deste em toda a superfície, através de uma análise longitudinal.

Além dessa metodologia, o ensaio de indentação instrumentada também pode ser utilizado para uma melhor compreensão dos efeitos adversos do clareamento dental e da atuação dos agentes bioativos na superfície do esmalte dental clareado.

No teste de nanoindentação, a impressão do indentador normalmente é muito pequena para ser medida visualmente. Dessa forma, a impressão residual não é mensurada, mas a área é inferida da suposição de que a área residual é a mesma área de contato no momento de carga máxima, A_c , que é calculada a partir da profundidade de contato h_c . A dureza de contato (H_c) pode ser definida como a dureza no pico de carga (82):

$$H_c = \frac{P_{\text{máx}}}{A_c} = \frac{P_{\text{máx}}}{\alpha_1(h_c)^2}$$

Onde α_1 é uma constante geométrica adimensional relacionada com o ângulo incluso de um cone efetivo, aproximando-se à geometria da ponta piramidal do indentador. O valor de $\alpha_1 = 25.5$ é associado com os indentadores piramidais ideais Vickers e Berkovich, que possuem um ângulo incluso de 70.3° . Tanto para as deformações plásticas quanto elásticas essas informações contribuem para a área de contato no pico de carga máxima (82).

Durante a indentação, uma curva que descreve a relação entre a carga W e o deslocamento h é monitorada e gravada continuamente. As propriedades mecânicas dos materiais podem ser derivadas através da análise dos valores (dados) de carga – deslocamento durante o ciclo de carregamento-descarregamento da indentação utilizando o método proposto por Oliver e Pharr (109).

Poucos estudos utilizaram a nanoindentação como método de análise após o clareamento dental, entretanto há evidências que a exposição dental à agentes químicos pode causar alterações nas propriedades nanomecânicas do substrato (76). Zimmerman et al. (110) submeteram os espécimes de seu estudo à tratamentos clareadores com peróxido de carbamida 20% e peróxido de hidrogênio 10%. Dentre os objetivos propostos, um deles era verificar a dureza e o módulo de elasticidade do esmalte dental clareado. Os espécimes que foram tratados com peróxido de hidrogênio 10% demonstraram uma diminuição do módulo de

elasticidade do esmalte, enquanto a aplicação de peróxido de carbamida 20% não apresentou efeitos significantes na superfície dental. Os efeitos dos tratamentos caseiros também tem sido estudados através dessa técnica. Azer et al (79) utilizaram géis clareadores a base de peróxido de carbamida 22% e peróxido de hidrogênio 9%. Já as tiras adesivas, comumente comercializadas como auto-administráveis, possuíam o peróxido de hidrogênio 10% e 14% como agente ativo. As mensurações do módulo de elasticidade e nanodureza demonstraram que houve uma diminuição em todos os grupos nas duas variáveis.

Ushigome et al. (78) relatam em seu estudo que muitas pesquisas utilizaram a microdureza Knoop ou Vickers para a avaliação da superfície dental clareada. Porém esses testes necessitam de uma carga aplicada mais elevada, em torno de 100-200 gf e necessitam de uma largura de 20-40 μm para que as mensurações possam ser realizadas, o que impossibilita uma avaliação das alterações em níveis micro e nanométricos. Já o sistema de nanoindentação, além de propiciar o uso de uma carga reduzida, 200mgf a indentação realizada é menor que 1 μm e também permite uma análise das alterações subsuperficiais. Para esse estudo, os autores utilizaram o peróxido de carbamida 10% e 30%. Apesar das concentrações serem diferentes, uma diminuição da dureza foi observada em 20 μm abaixo da camada mais superficial do esmalte, mas nenhuma alteração foi verificada a 50 μm .

Pesquisas relacionadas a nanoindentação do substrato dental clareado submetido a diferentes tratamentos remineralizadores ainda não foram realizadas. Esta metodologia quando combinada com outras técnicas podem explanar os reais efeitos das substâncias remineralizadoras, podendo até estabelecer um protocolo de aplicação das mesmas em diferentes casos.

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados na literatura até o momento com relação aos reais efeitos adversos do clareamento dental são controversos. Diferentes metodologias e formas de análise têm sido empregadas para avaliar esses efeitos dos agentes clareadores à superfície, porém não há como prever que os mesmos se comportem de uma maneira previsível. Entretanto, muitos artigos verificaram alterações no esmalte dental clareado e esses resultados podem ser considerados uma vez que a preocupação com a reversibilidade dessas modificações é pertinente.

Os diversos compostos bioativos por vezes possuem mecanismo de ação físico-químico, ou seja, são caracterizados pela deposição de diversos íons como cálcio e fosfato principalmente, e também pela aderência desses às estruturas dentais. Esses compostos são amplamente indicados nos tratamentos de sensibilidade dentinária ocasionados pela erosão da estrutura dental. Uma vez que o processo erosivo é caracterizado pela desmineralização da estrutura dental pode-se verificar uma semelhança deste com o procedimento clareador, sendo assim cabível a tentativa do uso de dentifrícios com esses compostos para diminuir ou reverter os efeitos indesejados ocasionados na superfície de esmalte pelo clareamento dental.

Para uma melhor compreensão dos mecanismos de ação de todos esses processos químicos, o uso de diferentes metodologias de análise torna-se elucidativo. As novas tecnologias permitem a preservação de espécimes e possibilita a correlação dentre as formas de análise comumente utilizadas. Essa correlação entre resultados também permite que os efeitos adversos sejam melhor interpretados e auxilia na verificação da potencial remineralizadora das diversas substâncias disponíveis atualmente.

Dessa forma, faz-se necessário um estudo para avaliar esses questionamentos assim como verificar se a correlação de análises é possível.

REFERÊNCIAS

- 1 Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching - a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(4):292-304.
- 2 Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent.* 2006 Aug;34(7):412-9.
- 3 Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent.* 2007 Dec;35(12):889-96.
- 4 Markovic L, Fotouhi K, Lorenz H, Jordan RA, Gaengler P, Zimmer S. Effects of bleaching agents on human enamel light reflectance. *Oper Dent.* 2010 Jul-Aug;35(4):405-11
- 5 Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int.* 1989 Mar;20(3):173-6.
- 6 Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clin Oral Investig.* 2011 Oct;15(5):673-80.
- 7 Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching: how safe is it? *Quintessence Int.* 1991 Jul;22(7):515-23.
- 8 Kihn PW. Vital tooth whitening. *Dent Clin North Am.* 2007 Apr;51(2):319-31.
- 9 de Abreu DR, Sasaki RT, Amaral FL, Flório FM, Basting RT. 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.* 2011 Jun;23(3):158-68.
- 10 Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J.* 2006 Apr 8;200(7):371-6.

11 de Arruda AM, Santos PD, Sundfeld R, Berger S, Briso A. Effect of Hydrogen Peroxide at 35% on the Morphology of Enamel and Interference in the De-mineralization Process: An In Situ Study. *Oper Dent*. 2012 Mar 21. [Epub ahead of print]

12 Grobler SR, Majeed A, Moola MH, Rossouw RJ, van Wyk Kotze T. In vivo Spectrophotometric Assessment of the Tooth Whitening Effectiveness of Nite White 10% with Amorphous Calcium Phosphate, Potassium Nitrate and Fluoride, Over a 6-month Period. *Open Dent J*. 2011 Mar 2;5:18-23.

13 Navimipour EJ, Kimyai S, Nikazar S, Ghojzadeh M. In vitro evaluation of the effect of delaying toothbrushing with toothpaste on enamel microhardness subsequent to bleaching the teeth with 15% carbamide peroxide. *Oper Dent*. 2012 Jan-Feb;37(1):87-92.

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

15 Andrade AP. Monitoramento do processo de desmineralização e remineralização do esmalte dental humano durante e após o clareamento dental [tese] [citado 23 abril 2012]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2009. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23134/tde-24102009-110644/> .

16 Attin T, Kocabiyik M, Buchalla W, Hannig C, Becker K. Susceptibility of enamel surfaces to demineralization after application of fluoridated carbamide peroxide gels. *Caries Res*. 2003 Mar-Apr;37(2):93-9.

17 Ferreira S da S, Araújo JL, Morhy ON, Tapety CM, Youssef MN, Sobral MA. The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microsc Res Tech*. 2011 Jun;74(6):512-6.

18 Bistey T, Nagy IP, Simó A, Hegedus C. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. *J Dent*. 2007 Apr;35(4):325-30. Epub 2006 Nov 20.

19 Tanaka R, Shibata Y, Manabe A, Miyazaki T. Micro-structural integrity of dental enamel subjected to two tooth whitening regimes. *Arch Oral Biol*. 2010 Apr;55(4):300-8.

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

21 Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, Ambrosano GM. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. *J Oral Rehabil.* 2004 Feb;31(2):155-9.

22 Basting RT, Rodrigues Júnior AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Oper Dent.* 2001 Nov-Dec;26(6):531-9.

23 Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res.* 2004 Oct-Dec;18(4):306-11.

24 Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Brancalion ML, Arruda MA, Berger SB, Giannini M. Effects of bleaching agents containing fluoride and calcium on human enamel. *Quintessence Int.* 2010 Sep;41(8):e157-65.

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

26 Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dent Mater.* 2009 Feb;25(2):143-57.

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

28 Sasaki RT, Arcanjo AJ, Flório FM, Basting RT. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide. *J Appl Oral Sci.* 2009 Nov-Dec;17(6):611-6.

29 Dawson PF, Sharif MO, Smith AB, Brunton PA. A clinical study comparing the efficacy and sensitivity of home vs combined whitening. *Oper Dent.* 2011 Sep-Oct;36(5):460-6. Epub 2011 Aug 22.

- 30 Giniger M, Macdonald J, Ziembra S, Felix H. The clinical performance of professionally dispensed bleaching gel with added amorphous calcium phosphate. *J Am Dent Assoc.* 2005 Mar;136(3):383-92.
- 31 Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J.* 2008 Sep;53(3):268-73. Review.
- 32 ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand.* 1999;57:325–9.
- 33 Langhorst SE, O'Donnell JN, Skrtic D. In vitro remineralization of enamel by polymeric amorphous calcium phosphate composite: quantitative microradiographic study. *Dent Mater.* 2009 Jul;25(7):884-91.
- 34 de Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. *Braz Dent J.* 2005;16(2):103-6.
- 35 Leandro GA, Attia ML, Cavalli V, do Rego MA, Liporoni PC. Effects of 10% carbamide peroxide treatment and sodium fluoride therapies on human enamel surface microhardness. *Gen Dent.* 2008;56(3):274-7.
- 36 Tschoppe P, Neumann K, Mueller J, Kielbassa AM. Effect of fluoridated bleaching gels on the remineralization of predemineralized bovine enamel in vitro. *J Dent.* 2009 Feb;37(2):156-62.
- 37 Al-Mullahi AM, Toumba KJ. Effect of Slow-Release Fluoride Devices and Casein Phosphopeptide/Amorphous Calcium Phosphate Nanocomplexes on Enamel Remineralization in vitro. *Caries Res.* 2010 Jul 29;44(4):364-371.
- 38 Wegehaupt FJ, Attin T. The Role of Fluoride and Casein Phosphopeptide/Amorphous Calcium Phosphate in the Prevention of Erosive/Abrasive Wear in an in vitro Model Using Hydrochloric Acid. *Caries Res.* 2010 Jul 29;44(4):358-63.
- 39 Burkwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin®): remineralization potential. *Adv Dent Res.* 2009 Aug;21:35-9.

40 Wefel JS. NovaMin®: likely clinical success. *Adv Dent Res*. 2009 Aug;21:40-43.

41 Andrade AP, Shimaoka AM, Carvalho RCR. Estudo bioquímico do esmalte dental humano tratado com agentes clareadores com diferentes concentrações de peróxido e exposto a repetidas aplicações. *RPG. Revista de Pós-Graduação (USP)*. 2009; 16(1):7-12.

42 Khoroushi M, Mazaheri H, Manoochehri A. Effect of CPP-ACP application on flexural strength of bleached enamel and dentin complex. *Oper Dent*. 2011 Jul-Aug;36(4):372-9.

43 Borges BC, Borges JS, de Melo CD, Pinheiro IV, Santos AJ, Braz R, Montes MA. Efficacy of a novel at-home bleaching technique with carbamide peroxides modified by CPP-ACP and its effect on the microhardness of bleached enamel. *Oper Dent*. 2011 Sep-Oct;36(5):521-8.

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

45 Gama Cunha AG, Meira De Vasconcelos AA, Dutra Borges BC, De Oliveira Vitoriano J, Alves-Junior C, Machado CT, Dos Santos AJ. Efficacy of in-office bleaching techniques combined with the application of a casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste at different moments and its influence on enamel surface properties. *Microsc Res Tech*. 2012 Mar 10. doi: 10.1002/jemt.22026. [Epub ahead of print]

46 Gjorgievska E, Nicholson JW. Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. *Austr Dent J*. 2011;56:193-200.

47 Shimaoka AM. Potencial remineralizador de dentifrícios com compostos bioativos no esmalte dental submetido a desafios erosivos de diferentes severidades [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011 [citado 23 abril 2012]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23134/tde-09062011-105245/> .

48 Reis A, Dalanhol AP, Cunha TS, Kossatz S, Loguercio AD. Assessment of tooth sensitivity using a desensitizer before light-activated bleaching. *Oper Dent*. 2011 Jan-Feb;36(1):12-7.

- 49 Basting RT, Amaral F, França F, Flório F. Clinical Comparative Study of the Effectiveness of and Tooth Sensitivity to 10% and 20% Carbamide Peroxide Home-Use and 35% and 38% Hydrogen Peroxide In-Office Bleaching Materials Containing Desensitizing Agents. *Oper Dent*. 2012 May 18.
- 50 Pinto SC, Pochapski MT, Wambier DS, Pilatti GL, Santos FA. In vitro and in vivo analyses of the effects of desensitizing agents on dentin permeability and dentinal tubule occlusion. *J Oral Sci*. 2010 Mar;52(1):23-32.
- 51 Oberg C, Pochapski MT, Farago PV, Granado CJ, Pilatti GL, Santos FA. Evaluation of desensitizing agents on dentin permeability and dentinal tubule occlusion: an in vitro study. *Gen Dent*. 2009 Sep-Oct;57(5):496-501; quiz 502-3, 535-536.
- 52 Bizhang M, Seemann R, Duve G, Römid G, Altenburger MJ, Jahn KR, Zimmer. Demineralization effects of 2 bleaching procedures on enamel with and without post-treatment fluoride application. *Oper Dent*. 2006;31(6):705-9.
- 53 Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralisation. *Br Dent J*. 2005 Mar 12;198(5):285-90; discussion 280.
- 54 Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent*. 2005 Aug;33(7):561-7.
- 55 Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Thirty-five percent carbamide peroxide application causes in vitro demineralization of enamel. *Dent Mater*. 2007 Jul;23(7):900-4.
- 56 Azrak B, Callaway A, Kurth P, Willershausen B. Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. *J Esthet Restor Dent*. 2010 Dec;22(6):391-9.
- 57 Mielczarek A, Klukowska M, Ganowicz M, Kwiatkowska A, Kwaśny M. The effect of strip, tray and office peroxide bleaching systems on enamel surfaces in vitro. *Dent Mater*. 2008 Nov;24(11):1495-500.
- 58 Cadenaro M, Breschi L, Nucci C, Antonioli F, Visintini E, Prati C, Matis BA, Di Lenarda R. Effect of two in-office whitening agents on the enamel surface in vivo: a

morphological and non-contact profilometric study. *Oper Dent.* 2008 Mar-Apr;33(2):127-34.

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

60 Faraoni-Romano JJ, Da Silveira AG, Turssi CP, Serra MC. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. *J Esthet Restor Dent.* 2008;20(6):395-402; discussion 403-4.

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

62 Al-Salehi SK, Wood DJ, Hatton PV. The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *J Dent.* 2007 Nov;35(11):845-50.

63 Severcan F, Gokduman K, Dogan A, Bolay S, Gokalp S. Effects of in-office and at-home bleaching on human enamel and dentin: an in vitro application of Fourier transform infrared study. *Appl Spectrosc.* 2008 Nov;62(11):1274-9.

64 Souza RO, Lombardo GH, Pereira SM, Zamboni SC, Valera MC, Araujo MA, Ozcan M. Analysis of tooth enamel after excessive bleaching: a study using scanning electron microscopy and energy dispersive x-ray spectroscopy. *Int J Prosthodont.* 2010 Jan-Feb;23(1):29-32.

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

66 Vieira GF, Arakaki Y, Caneppele TM. Spectrophotometric assessment of the effects of 10% carbamide peroxide on enamel translucency. *Braz Oral Res.* 2008 Jan-Mar;22(1):90-5.

67 Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Soares LE, Martin AA, Berger SB, Giannini M. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomed Laser Surg.* 2011 May;29(5):319-25.

68 Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. *Dent Mater.* 2007 Feb;23(2):243-50.

69 Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The use of QLF to quantify in vitro whitening in a product testing model. *Br Dent J.* 2001 Nov 24;191(10):566-9.

70 Gmür R, Giersten E, Van der Veen MH, de Jong EJ, ten Cate JM, Guggenheim B. In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel demineralization. *Clin Oral Invest.* 2006;10:187-195.

71 Adeyemi AA, Jarad FD, Pender N, Higham SM. Comparison of quantitative light-induced fluorescence (QLF) and digital imaging applied for detection and quantification of staining and stain removal on teeth. *J Dent.* 2006;34:460-6.

72 Adeyemi AA, Jarad FD, de Jouselin de Jong E, Pender N, Higham SM. The evaluation of a novel method comparing quantitative light-induced fluorescence (QLF) with spectrophotometry to assess staining and bleaching of teeth. *Clin Oral Invest.* 2010;14:19-25.

73 Zimmerman B, Datko L, Cupelli M, Alapati S, Dean D, Kennedy M. Alteration of dentin- enamel mechanical properties due to dental whitening treatments. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2010 May;3(4):339-46.

74 Hsu CC, Chung HY, Yang JM, Shi W, Wu B. Influence of ionic concentration on nanomechanical behaviors for remineralized enamel. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2011 Nov;4(8):1982-9.

75 Lippert F, Parker DM, Jandt KD. In vitro demineralization/remineralization cycles at human tooth enamel surfaces investigated by AFM and nanoindentation. *J Colloid Interface Sci.* 2004 Dec 15;280(2):442-8.

76 Habelitz S, Marshall GW, Balooch M, Marshall SJ. Nanoindentation and storage of teeth. *J Biomech.* 2002;35:995-8.

77 Hairul Nizam BR, Lim CT, Chng HK, Yap AUJ. Nanoindentation study of human premolars subjected to bleaching agent. *J Biomech.* 2005;38:2204-11.

78 Ushigome T, Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Influence of peroxide treatment on bovine enamel surface – cross sectional analysis. *Den Mater J*. 2009;28(3):315-23.

79 Azer SS, Machado C, Sanchez E, Rashid R. Effect of home bleaching systems on enamel nanohardness and elastic modulus. *J Dent*. 2009 Mar;37(3):185-90. Epub 2008 Dec 23.

80 Dominguez JA, Bittencourt B, Michel M, Sabino N, Gomes JC, Gomes OM. Ultrastructural evaluation of enamel after dental bleaching associated with fluoride. *Microsc Res Tech*. 2012 Mar 15. doi: 10.1002/jemt.22035. [Epub ahead of print]

81 Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol*. 2002;47:281-291.

82 Oyen ML. Nanoindentation hardness of mineralized tissues. *J Biomech*. 2006;39(14):2699-702.

83 Huja SS, Beck FM, Thurman DT. Indentation properties of young and old osteons. *Calcif Tissue Int*. 2006;78:392-7.

84 Zhou J, Hsiung LL. Depth dependent mechanical properties of enamel by nanoindentation. *J Biomed Mater Res A*. 2007 Apr;81(1):66-74.

85 Mokhlis GR, Matis BA, Cochran MA, Eckert GJ. A clinical evaluation of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening agents during daytime use. *J Am Dent Assoc*. 2000 Sep;131(9):1269-77.

86 Borges AB, Yui KC, D'Avila TC, Takahashi CL, Torres CR, Borges AL. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Oper Dent*. 2010 Mar-Apr;35(2):180-6.

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

88 Basting RT, Rodrigues AL Jr, Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J Am Dent Assoc*. 2003 Oct;134(10):1335-42.

- 89 Rodrigues JA, Marchi GM, Ambrosano GM, Heymann HO, Pimenta LA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dent Mater.* 2005 Nov;21(11):1059-67.
- 90 Rodrigues JA, Oliveira GP, Amaral CM. Effect of thickener agents on dental enamel microhardness submitted to at-home bleaching. *Braz Oral Res.* 2007 Apr-Jun;21(2):170-5.
- 91 Soldani P, Amaral CM, Rodrigues JA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching and thickening agents on human dental enamel. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010 Apr;30(2):203-11.
- 92 Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent* 1999;27(7):509-15.
- 93 Maia E, Baratieri LN, Caldeira de Andrada MA, Monteiro S Jr, Vieira LC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an in situ study. *J Dent.* 2008 Jan;36(1):2-7.
- 94 Metz MJ, Cochran MA, Matis BA, Gonzalez C, Platt JA, Pund MR. Clinical evaluation of 15% carbamide peroxide on the surface microhardness and shear bond strength of human enamel. *Oper Dent.* 2007 Sep-Oct;32(5):427-36.
- 95 Pinheiro HB, Cardoso PE. Influence of five home whitening gels and a remineralizing gel on the enamel and dentin ultrastructure and hardness. *Am J Dent.* 2011 Jun;24(3):131-7.
- 96 Magalhães JG, Marimoto AR, Torres CR, Pagani C, Teixeira SC, Barcellos DC. Microhardness change of enamel due to bleaching with in-office bleaching gels of different acidity. *Acta Odontol Scand.* 2012 Mar;70(2):122-6.
- 97 Chen HP, Chang CH, Liu JK, Chuang SF, Yang JY. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. *J Dent.* 2008 Sep;36(9):718-25.
- 98 Smidt A, Feuerstein O, Topel M. Mechanical, morphologic, and chemical effects of carbamide peroxide bleaching agents on human enamel in situ. *Quintessence Int.* 2011 May;42(5):407-12.

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

100 Attin T, Albrecht K, Becker K, Hannig C, Wiegand A. Influence of carbamide peroxide on enamel fluoride uptake. *J Dent.* 2006 Oct;34(9):668-75

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

102 Kato MT, Lancia M, Sales-Peres SH, Buzalaf MA. Preventive effect of commercial desensitizing toothpastes on bovine enamel erosion in vitro. *Caries Res.* 2010;44(2):85-9.

103 Tay LY, Kose C, Loguercio AD, Reis A. Assessing the effect of a desensitizing agent used before in-office tooth bleaching. *J Am Dent Assoc.* 2009 Oct;140(10):1245-51.

104 Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res.* 1997 Sep;76(9):1587-95.

105 Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent.* 2009 Dec;37(12):949-54.

106 Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent.* 2007 Apr;35(4):355-7.

107 Rousseau C, Vaidya S, Creanor SL, Hall AF, Girkin JM, Whitters CJ, Strang R, McHugh S. The effect of dentine on fluorescence measurements of enamel lesions in vitro. *Caries Res.* 2002;36:381-5.

108 Ando M, Schemehorn BR, Eckert GJ, Zero DT, Stookey GK. Influence of enamel thickness on quantification of mineral loss in enamel using laser-induced fluorescence. *Caries Res.* 2003;37:24-8.

109 Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J Mat Res.* 1992 (7):1564-83.

110 Zimmerman B, Datko L, Cupelli M, Alapati S, Dean D, Kennedy M. Alterations of dentin enamel⁹⁴ mechanical properties due to dental whitening treatment. *J Mec Behav Biom Mat.* 2010;3(4):339-46.