

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

**VICTOR TRASSI FERNANDES SILVA DE SOUZA**

**Efeito da aplicação do gel e dentifrício contendo silicato de cálcio e  
fosfato de sódio no esmalte dental clareado**

Ribeirão Preto

2022

**VICTOR TRASSI FERNANDES SILVA DE SOUZA**

# **Efeito da aplicação do gel e dentifrício contendo silicato de cálcio e fosfato de sódio no esmalte dental clareado**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor junto ao Programa de Odontologia Restauradora com Área de Concentração em Dentística.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aline Evangelista Souza Gabriel

Ribeirão Preto

2022

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE SEJA CITADA A FONTE.

Assinatura do autor: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/2022

## FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, V.T.F.S.

Efeito da aplicação do gel e dentifrício contendo silicato de cálcio e fosfato de sódio no esmalte dental clareado. Victor Trassi Fernandes Silva de Souza. Ribeirão Preto, 2022.

100p.: il.; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP), área de concentração: Odontologia Restauradora – Opção: Dentística Restauradora.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Aline Evangelista Souza Gabriel

1. Clareamento dental. 2. Silicato de cálcio. 3. Fosfato de sódio. 4. Esmalte

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: SOUZA, Victor Trassi Fernandes Silva de.

Título: Efeito da aplicação do gel e dentífrico contendo silicato de cálcio e fosfato de sódio no esmalte dental clareado

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências junto ao Programa de Odontologia Restauradora com Área de Concentração: Odontologia Restauradora (Opção: Dentística Restauradora).

Aprovado em: /\_/\_/

### Banca Examinadora

Presidente: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aline Evangelista Souza Gabriel

Instituição: Universidade de São Paulo/ Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Prof. (a).Dr.(a).: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. (a).Dr.(a).: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. (a).Dr.(a).: \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_





Este trabalho de pesquisa foi realizado nas dependências clínicas da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e no Departamento de Odontologia Restauradora. Auxílio CNPq (Bolsa categoria Demanda Social – Doutorado)





*D*edicatória

---



Ao onipresente, onisciente e onipotente **Deus**. Por me dar a força e coragem necessárias para enfrentar os desafios diários, as provações constantes, os percalços e as surpresas que a vida entrega. Por me fazer perseverar mesmo nos momentos mais escuros, nos caminhos mais tortuosos e nas mais árduas privações.

Aos meus pais **Wagner Aparecido de Souza** e **Simone Fernandes Silva**. Pelo apoio inigualável, incontentável e incondicional. Amo vocês mais do que tudo nessa vida.

Ao meu irmão **Bruno Trassi Fernandes Silva de Souza**. Pelo companheirismo, amizade fraternal inabalável e força nos momentos difíceis.

À minha companheira **Denise de Souza Freitas**. Por me fazer rir, sorrir, por me fazer ter vontade de viver, querer ser uma pessoa melhor, querer alcançar meus objetivos e superar os desafios. Seu apoio e motivação fizeram tudo isto possível.

À minha **família**. Pela presença constante durante este curso e por serem meu ombro amigo nesta jornada.

Aos **meus amigos**. Pelos momentos inesquecíveis de confraternização, amizade e amor. Por terem inundado este caminho com risadas, sorrisos e memórias.



# *Agradecimientos*

---



À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FORP-USP), nas figuras dos excelentíssimos diretor **Prof. Dr. Paulo Nelson Filho** e do vice-diretor **Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva**, por ser uma instituição de renome e ter possibilitado a condução deste trabalho.

À **Prof.ª Dr.ª Aline Evangelista Souza Gabriel** por ter me concedido esta oportunidade ímpar, por ter me agraciado com experiências dentro do meio acadêmico, por não ter desistido de mim, acreditado no meu potencial e por toda a paciência e cuidado com os quais me guiou dentro desta jornada.

À **Prof. Dr.ª Silmara Aparecida Milori Corona**, por todos os conhecimentos e experiências passados, paciência e confiança. Agradeço pela imensa ajuda dada na confecção deste trabalho.

À **Prof.ª Dr.ª Regina Guenka Palma-Dibb** por todos os conhecimentos técnicos e científicos compartilhados.

À **Prof.ª Dr.ª Maria Cristina Borsatto** pela grande ajuda fornecida na confecção desta tese. Seus conselhos e recomendações fizeram este trabalho melhor e mais completo.

Ao **Departamento de Odontologia Restauradora** e a todos seus membros docentes, por terem me agraciado com a oportunidade de aprofundar meus conhecimentos e terem contribuído direta ou indiretamente na minha formação como profissional acadêmico e clínico.

A **os funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora** pela grande ajuda no dia a dia, na resolução das atividades burocráticas e demais obrigações inerentes a este curso, sempre com muita boa vontade, atenção e carinho.

A **os funcionários da Seção de Pós-Graduação** desta faculdade, pela ajuda sempre disponível e prestativa.

Aos **alunos do Departamento de Odontologia Restauradora**, pelo compartilhamento de experiências, conhecimentos e pela convivência, que tornaram este caminho mais alegre e menos difícil. A todos que de alguma maneira contribuíram para a confecção deste trabalho e demais atividades durante estes anos.

Ao técnico responsável pelo laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da Faculdade de Química da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto, **Rodrigo Ferreira Silva** pela imensa atenção, cuidado e por ter sido muito prestativo na condução dos experimentos necessários. Fica a você o meu muito obrigado.

Ao colega de pós-graduação e agora já professor **Reinaldo Dias da Silva Neto** por ter me acolhido na minha chegada à esta faculdade, além das intermináveis ajudas, conselhos e momentos de confraternização que compartilhamos.

Ao colega de pós-graduação **Thiago Vinicius Cortez** pela inestimável contribuição para este trabalho. Sua disponibilidade, atenção e determinação nunca serão esquecidos por mim.



À colega e aluna de graduação **Maristela Yume Nakamura** pela contribuição na fase experimental deste estudo. Sem sua presença este trabalho não seria possível.

Ao **CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** pelo apoio financeiro e técnico.



*“A sabedoria é um paradoxo. O homem que mais sabe é aquele que  
mais reconhece a vastidão da sua ignorância”*

**Friedrich Nietzsche**



*Resumo*

---



## **SOUZA, V.T.F.S. Efeito da aplicação do gel e dentifrício contendo silicato de cálcio e fosfato de sódio no esmalte dental clareado**

O silicato de cálcio e o fosfato de sódio, substâncias presentes em géis e dentifrícios, têm demonstrado resultados promissores na capacidade de remineralizar o esmalte dental. Estes efeitos positivos podem contribuir para o restabelecimento da mineralização do esmalte submetido ao clareamento. Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de gel e dentifrício à base de silicato de cálcio e fosfato de sódio (SCFS) na superfície do esmalte clareado com agente de alta concentração, por meio da análise de microdureza Knoop (KNH), rugosidade superficial, composição química por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e morfologia de superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O clareamento foi realizado com gel de peróxido de hidrogênio a 35%, sendo 3 aplicações de 15 minutos cada. A amostra foi composta por 120 fragmentos de esmalte (5mm x 5mm x 3mm), distribuídos em quatro grupos de acordo com o tratamento pós-clareamento: GI – dentifrício fluoretado (Colgate Total 12) (1450ppm); GII - dentifrício SCFS (Regenerate, Unilever); GIII - dentifrício SCFS e aplicação de sêrum de SCFS e GIV - dentifrício fluoretado (1450ppm) e aplicação de gel fluoretado (fluoreto de sódio a 2%). As análises foram realizadas em três tempos:  $t_0$  – antes do clareamento;  $t_1$  – após o clareamento e  $t_2$  – após o tratamento pós-clareamento. Foram realizadas análise quantitativa da microdureza da superfície (n=10); análise da rugosidade superficial por meio de microscopia confocal de varredura a laser (n=10); análise do percentual de cálcio, fósforo e oxigênio por meio de EDS (n=5) e análise da morfologia da superfície por MEV (n=5). Os dentifrícios foram utilizados em máquina de escovação, 3 vezes ao dia, durante 7 dias. Em seguida, o sêrum e gel fluoretado foram aplicados nos grupos III e IV, respectivamente. A KNH foi realizada em microdurômetro (HMV-2), a rugosidade superficial em microscópio confocal a laser (LEXT4000) e a EDS e a MEV em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss EVO 50). Os

dados foram avaliados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e submetidos à Análise de Variância a dois critérios e teste de Bonferroni ( $\alpha=5\%$ ). Os valores de microdureza diminuíram após o clareamento ( $p<0,0001$ ). O pós-tratamento da superfície promoveu aumento na microdureza, independentemente do tratamento realizado. Aplicação do dentifrício SCFS + gel SCFS diferiu estatisticamente dos demais ( $p=0,0230$ ) e foi o único tratamento que restabeleceu a microdureza aos valores originais. Os valores de rugosidade aumentaram significativamente após o clareamento e foram reduzidos após os tratamentos de superfície, que não diferiram entre si ( $p=0,2204$ ). O EDS e MEV demonstraram ausência de alterações químicas ou morfológicas significativas no esmalte dental após o clareamento e/ou tratamentos. O tratamento de superfície pós-clareamento com dentifrício SCFS e aplicação de gel SCFS proporcionaram benefício adicional na remineralização do esmalte.

Palavras-chave: Esmalte; Clareamento dental; Silicato de cálcio; Fosfato de sódio.



# *Abstract*

---



SOUZA, V.T.F.S. Effect of the application of calcium silicate and sodium phosphate remineralizing products on bleached enamel

Calcium silicate and sodium phosphate are substances that are present in gels and dentifrices and promising results have been shown regarding their capabilities to remineralize enamel. These positive effects can contribute to the reestablishment of the mineral composition of enamel that has been bleached. This study aimed to evaluate the effects of a gel and dentifrice containing calcium silicate and sodium phosphate (CSSP) on the surface of bleached enamel with a highly concentrated agent, using the following tests: Knoop microhardness (KNH), surface roughness, energy dispersive spectroscopy (EDS) and scanning electron microscopy (SEM). The bleaching treatment was conducted using a 35% hydrogen peroxide gel with 3 applications consisting of 15 minutes each. The sample consisted of 160 enamel fragments (5mm x 5mm x 3mm) that were distributed among 4 groups, according to the post-bleaching surface treatment: GI – sodium fluoride (NaF) dentifrice (1450ppm); GII – CSSP dentifrice (Regenerate, Unilever); GIII – CSSP dentifrice + CSSP serum and GIV - sodium fluoride (NaF) dentifrice (1450 ppm) + NaF gel (2%). The analyses were performed at three different periods: t0 – before bleaching; t1 – after bleaching; t2 – after the surface treatments. The quantitative analysis of the (KNH) enamel microhardness (n=10); surface roughness (n=10); analysis of the atomic percentage of calcium, phosphorous and oxygen using EDS (n=5) and surface morphology analysis using scanning electron microscopy (n=5) were carried out. The dentifrices were applied 3 times a day, for 7 days, using a brushing machine. The application of the gels was performed after the brushing procedures in groups I and II. The KNH was performed using a microhardness tester (HMV-2), the surface roughness using a confocal laser microscope (LEXT4000) and the EDS and SEM analyses were conducted in a scanning electron

microscope (Zeiss EVO 50). The data was analyzed regarding its distribution (Shapiro-Wilk test), submitted to a two-way Analysis of Variance (ANOVA) test and Bonferroni's test ( $\alpha=5\%$ ). The microhardness values decreased significantly for all the groups after the bleaching procedures ( $p<0.0001$ ). The application of surface treatments on the enamel provided an increase in the microhardness values, regardless of treatment. The only group able to restore microhardness values to baseline was the CSSP dentifrice + Serum (GIII) ( $p=0,0230$ ). After bleaching, the surface roughness values decreased for all the groups and were recuperated after the application of the surface treatments, without significant difference among them ( $p=0.2204$ ). EDS and SEM analysis did not show differences in the chemical composition and morphology after the application of both bleaching and surface treatments. The post-bleaching surface treatment with CSSP dentifrice + CSSP serum provided an additional remineralizing effect on the enamel.

Keywords: Enamel; Dental Bleaching; Calcium silicate; Sodium phosphate.

# *Sumário*

---



1 Introdução .....	35
2 Proposição .....	43
3 Materiais e Métodos .....	47
4 Resultados .....	62
5 Discussão .....	74
6 Conclusão .....	86
7 Referências Bibliográficas .....	90





# *I*ntrodução

---



O clareamento dental é um procedimento de caráter conservativo e estético que proporciona alteração na tonalidade dos dentes, na busca de um sorriso mais atraente e jovial, sem desgaste de estrutura mineral sadia (Alqahtani, 2014; Pintado-Palomino et al., 2015; Kwon et al., 2020). As origens deste procedimento remontam ao ano de 1887, tendo sido vastamente aprimorado e estudado ao longo século XX (Fasanaro, 1992). Nas últimas décadas sua prevalência tem aumentado severamente, devido às alterações nos padrões estéticos e na vida em sociedade (Orr, 2016; Chisini et al., 2019). Dentre as modalidades utilizadas para a técnica de clareamento de consultório, destaca-se o emprego do peróxido de hidrogênio (PH) em concentrações acima de 30%, devido à praticidade da técnica e alcance dos efeitos desejados em menor tempo, inclusive em dentes com alterações de cor severa (Mondelli et al., 2015; Bezerra-Júnior et al., 2016; Türkmen et al., 2016; Fernandes et al., 2017).

Entretanto, estudos demonstraram que certos efeitos adversos podem ser observados depois da aplicação dos agentes clareadores de alta concentração na estrutura dental. Dentre eles, podem ser citados a sensibilidade dental, o que acaba por comprometer a capacidade ideal de alimentação do paciente, além de poder causar desde um leve desconforto a dores de caráter exacerbado (Dahl et al., 2003; Goldberg et al., 2010; Loguercio et al., 2017). Além disso, a composição muitas vezes ácida dos géis de clareamento leva à erosão na superfície do esmalte, bem como ocorre durante a ingestão de bebidas e refrigerantes ácidos (Coceska et al., 2016). Essa ocorrência, conjuntamente com os efeitos deletérios de aumento da rugosidade e porosidade da superfície (Mondelli et al., 2015; Sasaki et al., 2015) e da diminuição da microdureza (Attin et al., 2009; de Arruda et al., 2012; Zanolli et al., 2017; Lago et al., 2017), levam à interferência negativa nas propriedades físicas do substrato dental. Outro aspecto negativo constatado é o fato de que o oxigênio residual resultante da decomposição do agente clareador pode inibir a

polimerização do material resinoso e reduzir a resistência de união da interface adesiva, o que prejudica a longevidade da restauração e de outros tratamentos restauradores adesivos (Bittencourt et al., 2010; Arumugam et al., 2014; Briso et al., 2014; Feiz et al., 2017). Os fatores supracitados derivam da interação mineral entre os componentes clareadores e o tecido inorgânico dental, que sofre efeito desmineralizador (Burrows, 2009; Li et al., 2014; Kwon et al., 2015; Kwon et al., 2020).

Os componentes da saliva, como os íons cálcio e fosfato, auxiliam na reposição de minerais perdidos do esmalte, mas essa ação pode não ser suficientemente célere para restabelecer o equilíbrio pós-tratamento clareador (Li et al., 2014; Hara et al., 2014; Mendonça et al., 2017). Dessa forma, com o intuito de contribuir de forma efetiva para a remineralização, acelerar a reposição destes minerais e oferecer benefício adicional às áreas desmineralizadas do esmalte, diversas substâncias e protocolos empregando dentifrícios e/ou géis têm sido estudados (Li et al., 2014; Souza-Gabriel, 2020). As substâncias liberadoras de íons fluoreto ( $F^-$ ), em especial o fluoreto de sódio (NaF), são atualmente os métodos mais utilizados nos tratamentos pós-clareamento, pois também permitem a incorporação de flúor à matriz de hidroxiapatita e formação de fluorapatita (Dorozhkin., 2012; Li et al., 2014; Dionysopoulos et al., 2017). No entanto, os valores de microdureza de esmalte clareado não foram totalmente recuperados mesmo após a aplicação de NaF a 2% (da Costa Soares et al., 2013). Essa aplicação de tratamentos remineralizadores tem sido sugerida de diversas maneiras, podendo ser antes, durante ou após as sessões de clareamento. Estudos prévios, contudo, não mostraram diferenças significativas entre os distintos momentos de execução dos tratamentos de superfície (da Costa Soares et al., 2013; Kemaloglu et al., 2014).

A utilização de nanohidroxiapatita (nano-P), também tem sido estudada (Pepla et al., 2014) e mostrou ser capaz de fornecer efeito remineralizante ao esmalte clareado com

peróxido de carbamida a 35% (Gomes et al., 2017). Por outro lado, quando em ação concomitante ao laser de CO<sub>2</sub> e uma pasta dessensibilizante, os efeitos benéficos remineralizadores só puderam ser observados após um mês de armazenamento (Moosavi et al., 2016). Não obstante, observou-se em outro estudo que, mesmo após o uso combinado do fluoreto de sódio (NaF) a 2% e produtos à base de nano-P, os valores de microdureza do esmalte antes do clareamento com PH 35% não foram totalmente recuperados (da Costa Soares et al., 2013). Outro meio através do qual tenta-se inibir os efeitos deletérios do clareamento é a modificação da composição dos géis em si, com a adição de elementos como o fosfato de cálcio amorfo, o gluconato de cálcio (0,5%) e a caseína fosfopeptídeo-amorfa. Investigações prévias mostram que a inclusão destes elementos parece não ser capaz de prevenir a perda de microdureza resultante da desmineralização do esmalte clareado (Borges et al., 2016; Divyapriya et al., 2016).

É possível observar, portanto, que há uma lacuna no que diz respeito à utilização de substâncias remineralizadoras pós-tratamento clareador. Paralelamente, verifica-se, na literatura, resultados promissores na recuperação do esmalte alterado por processos desmineralizadores com o uso de dentífrico e gel fluoretados (1450 ppmF) à base de silicato de cálcio (CaSiO<sub>3</sub>) e sais de fosfato de sódio (nas formas fosfato monossódico - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e fosfato trissódico – Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (SCFS) (Jones et al., 2014; Joiner et al., 2014; Sun et al., 2014; Hornby et al., 2014). Estes produtos se apresentam no mercado comercial atual na forma do dentífrico Regenerate™ Advanced Toothpaste (Unilever) e o seu componente adjunto, o gel remineralizador Regenerate™ Advanced Enamel Sérum (Unilever). Este, por sua vez, é disposto na forma de um kit composto por duas pastas: o gel ativador e o sérum NR-5, de composição patenteada. Enquanto o dentífrico deve ser usado da maneira convencional, o gel requer a manipulação das duas pastas através de instrumental fornecido pelo fabricante e, posteriormente, aplicação nas

superfícies desejadas ou através do uso das placas acrílicas oferecidas no kit (Poggio et al., 2017). O mecanismo de ação desses compostos está baseado na hipótese de que a eficácia do flúor depende da disponibilidade de cálcio e fosfato presentes na saliva durante e imediatamente após a escovação (Joiner et al., 2014). Por meio da deposição de SCFS na superfície de esmalte é possível criar um reservatório de íons que são liberados a cavidade bucal, mesmo em ambientes ácidos, o que aumenta a saturação de cálcio na saliva e inibe a dissolução dos cristais de hidroxiapatita, propiciando condições favoráveis de remineralização e prevenção de desmineralização do esmalte (Joiner et al., 2014; Sun et al., 2014; Hornby et al., 2014).

Estudos *in vitro* (Parker et al., 2014; Sun et al., 2014; Medvecky et al., 2018) e *in situ* (Joiner et al., 2014) em esmalte erodido verificaram que o dentífrício e o gel de SCFS, foram capazes de recuperar a microdureza do esmalte, além de contribuírem para a formação de fina camada de substância com cristalinidade e composição química compatíveis com a hidroxiapatita. Em esmalte submetido à ação de agentes clareadores, o único estudo atual (Crastechini et al., 2019) constatou o efeito remineralizador destes elementos na microdureza, que foi recuperada parcialmente a valores aquém daqueles obtidos antes dos procedimentos de clareamento. Adicionalmente, verificou-se também que não houve efeito sobre a susceptibilidade à alteração de cor com o uso do conjunto dentífrício e sérum. Em adição, avaliando a possível efeito protetor de gel remineralizador na manutenção de cor de esmalte bovino clareado com peróxido de hidrogênio (35%) e posterior imersão em refrigerante de cola, foi verificado o efeito protetor do gel, que impediu a alteração de cor do esmalte após 1 e 7 dias de imersão (Carneiro et al., 2019). As propriedades protetoras dos dentífrícios e géis de SCFS no esmalte submetido a desafios erosivos e abrasivos também já foi determinado, onde seu uso em dentes imersão em ácido cítrico e posterior abrasão resultou em formação de camada protetora e menos

perda de estrutura (Leal et al., 2020). Em adição, um estudo clínico randomizado foi capaz de detectar as capacidades de selamento dentinário e diminuição de permeabilidade utilizando SCFS, que mostrou resultados superiores ao flúor (Seong et al., 2020). No entanto, são ainda escassos os estudos que combinem a análise tanto das propriedades mecânicas quanto das químicas, além de avaliação qualitativa dos efeitos dos tratamentos sobre a micromorfologia da superfície.

Tendo em vista o efeito dos agentes clareadores que ocasionam perda de substância interprismática do esmalte (Coceska et al., 2016) e considerando a provável ação benéfica do dentifrício e do gel à base de silicato de cálcio e o fosfato de sódio no esmalte, torna-se fundamental avaliar a ação desses compostos na superfície de esmalte clareado com agente de alta concentração.





*P*roposição

---



O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do gel e do dentifrício à base de silicato de cálcio e fosfato de sódio na superfície do esmalte clareado com peróxido de hidrogênio a 35% e compará-lo à ação de tratamentos convencionais (dentifrício convencional com ou sem aplicação de NaF a 2%), sendo as análises conduzidas em três tempos: antes do clareamento (baseline), após o clareamento (t<sub>1</sub>) e após a aplicação dos tratamentos de superfície.

Os objetivos específicos foram:

- 1- Analisar a microdureza superficial do esmalte (KHN);
- 2- Avaliar a rugosidade superficial do esmalte por meio de microscopia confocal de varredura a laser (MCVL);
- 3- Quantificar os elementos químicos oxigênio, cálcio, fósforo do esmalte, bem como avaliar a relação Ca/P, por meio de espectroscopia eletrônica de análise química (EDS);
- 4- Avaliar a morfologia superficial do esmalte por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).



*Materiais e Métodos*

---



## Delineamento experimental

As amostras foram compostas por 120 fragmentos de esmalte bovino, sendo os fatores de estudo o tratamento do esmalte clareado em quatro níveis: dentífrico fluoretado (1450ppm) (Colgate Total 12<sup>®</sup>, Colgate-Palmolive); dentífrico SCFS (1450ppm) (Regenerate Enamel Science, Unilever) ; dentífrico SCFS (1450ppm) (Regenerate Enamel Science, Unilever) + aplicação de sérum del SCFS (Regenerate Boosting Serum Gel, Unilever) e dentífrico fluoretado (1450ppm) (Colgate Total 12<sup>®</sup>, Colgate-Palmolive); + aplicação de gel fluoretado (NaF a 2%). O tempo da análise foi realizado em três níveis: antes do clareamento (baseline); após o clareamento ( $t_1$ ) e após o tratamento do esmalte clareado ( $t_2$ ). O clareamento foi realizado com gel de peróxido de hidrogênio a 35% (HP Whiteness, FGM), que consistiram em três aplicações de 15 minutos cada. O delineamento experimental foi realizado em blocos casualizados, com as seguintes variáveis resposta: 1) análise quantitativa (KNH) da microdureza da superfície (n=10); 2) análise da rugosidade superficial por meio de MCVL (n=10); 3) análise do percentual atômico de Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Oxigênio (O<sub>2</sub>) por meio de EDS (n=5); 4) análise qualitativa da morfologia da superfície por meio de MEV (n=5). A figura 2 apresenta o fluxograma do experimento, e a Tabela 1 descreve os materiais utilizados.

Tabela 1. Composição química dos produtos utilizados neste estudo.

<b>Produto</b>	<b>Composição</b>	<b>Fabricante</b>
Whiteness HP35% Lote:050619	Peróxido de hidrogênio a 35%, espessante, etileno glicol, reguladores de pH, água	FGM (Joinville, Santa Catarina, Brasil)
Colgate Total® 12 Lote: 9162BR12EB	Fluoreto de sódio (1450ppm íons fluoreto), 0,3% triclosan, água, glicerina, sorbitol, sílica hidratada, sodium laurilsulfato de sódio, aroma/sabor, sacarina sódica, hidróxido de sódio, CI 77891.	Colgate-Palmolive (Osasco, São Paulo, Brasil)
Regenerate Enamel Science – Advanced Toothpaste Lote:80508CA*	Monofluorofosfato de sódio (1450ppm de íons fluoreto F <sup>-</sup> ), glicerina, silicato de cálcio, PEG- 8, hidrato de sílica, trisódio fosfato, fosfato de sódio, água, PEG-60, laurilsulfato de sódio, aroma, flogopita sintética, sacarina sódica, ácido poliacrílico, dióxido de estanho, limoneno, CI 77891	Unilever (Le Meux, França)
Regenerate Advanced Enamel Serum Lote:42379CYB	Fluoreto de sódio (1450ppm de íons fluoreto F <sup>-</sup> ); NR-5 Serum: glicerina, silicato de cálcio, PEG- 8, trisódio fosfato, fosfato de sódio, água, PEG-60, laurilsulfato de sódio, aroma/sabor, sílica hidratada, flogopita sintética, sacarina sódica, ácido poliacrílico, CI 77891, limoneno, monofluorofosfato de sódio (1450 ppm de íons fluoreto F <sup>-</sup> ) Gel ativador: água, glicerina, carboximetilcelulose, etilhexilglicerina, fenoxietanol, CI42090	Unilever (Le Meux, França)
Flugel Neutro 2% Lote:27212553	Fluoreto de sódio a 2% (9000ppm íons fluoreto), água deionizada, hidroxietil celulose, propileno glicol, glicerina, sacarina sódica.	DFL (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil)



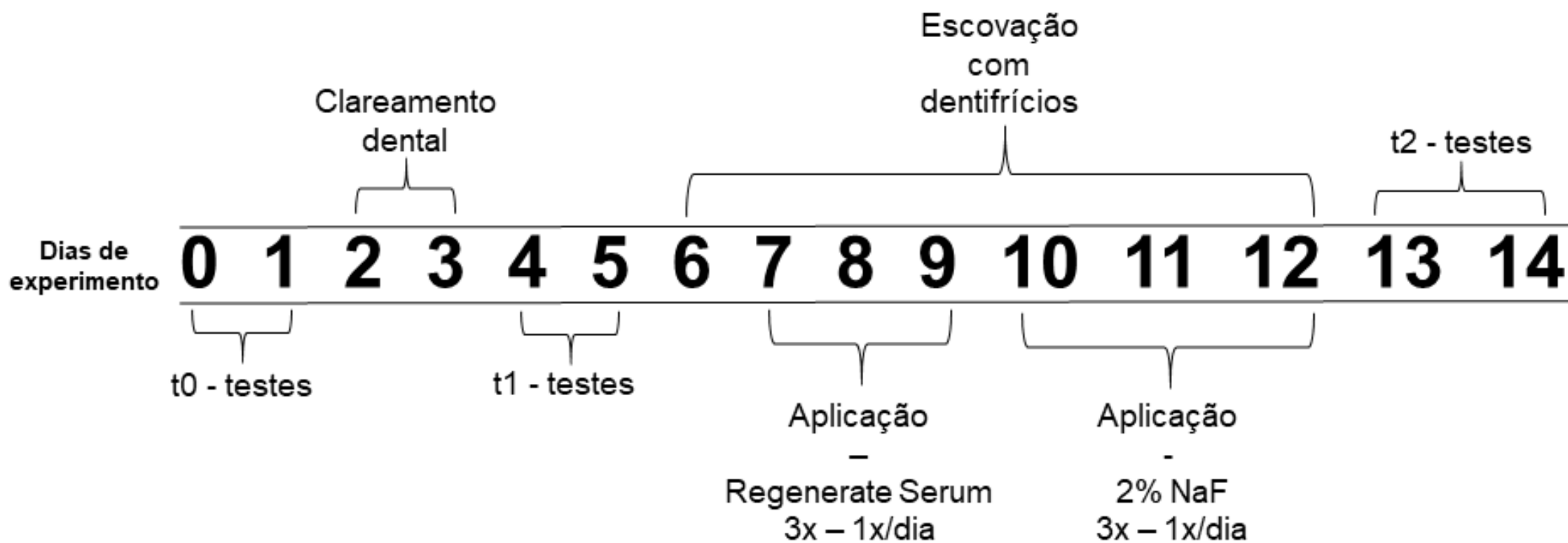
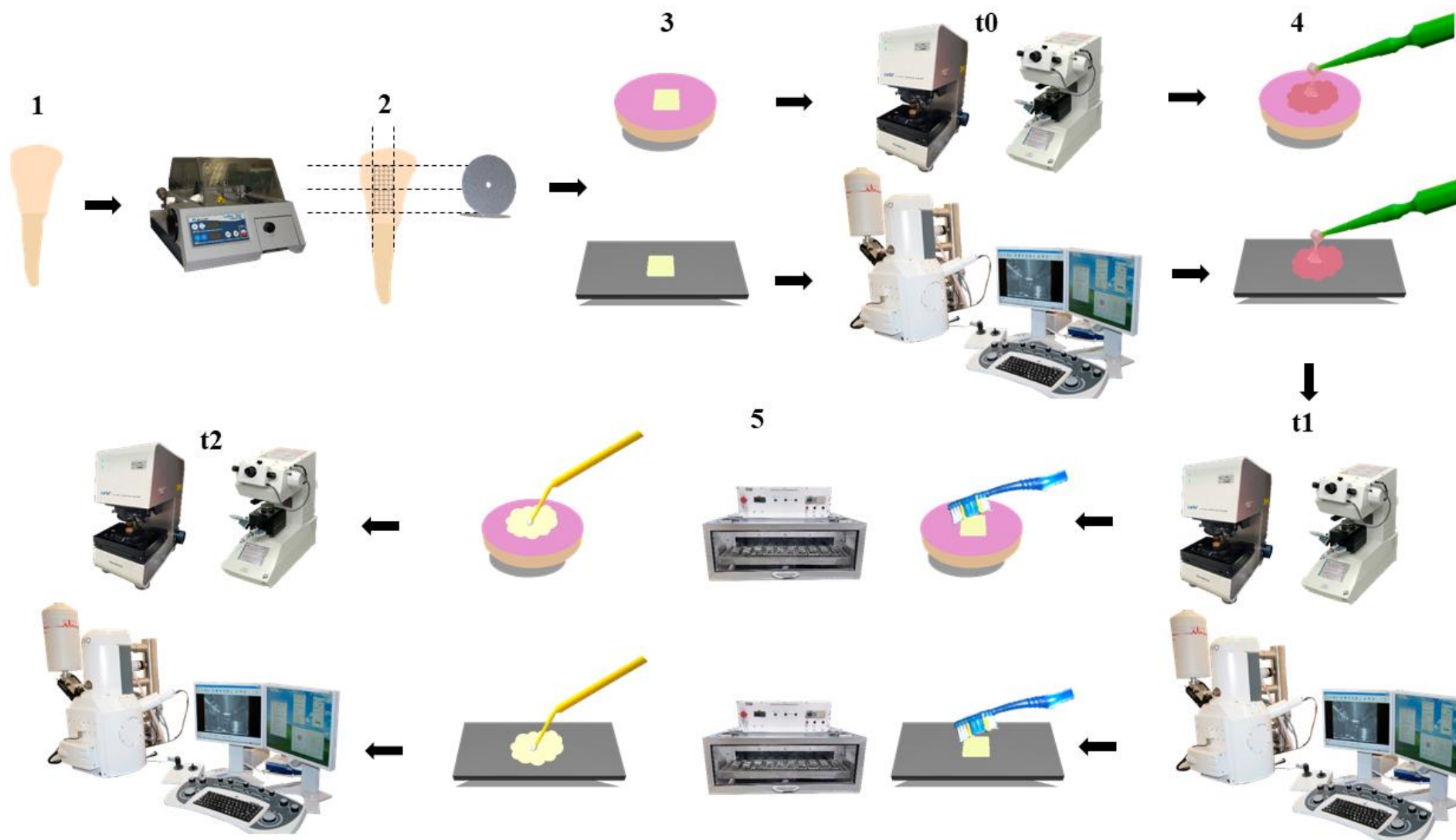


Figura 1. Linha do tempo do estudo



**Figura 2.** 1. Seleção de dentes bovinos; 2. Secção e padronização dos fragmentos; 3. Inclusão dos espécimes e posicionamento em placas acrílicas; t0 – Microdureza, rugosidade, EDS e MEV (t0, *baseline*); 4. Clareamento dental; t1 - Microdureza, rugosidade, EDS e MEV (t1); 5 – Escovação com os respectivos dentífrícios e aplicação dos géis remineralizadores; t2 – Microdureza, rugosidade, EDS e MEV (t2).

### **Seleção dos fragmentos dentais**

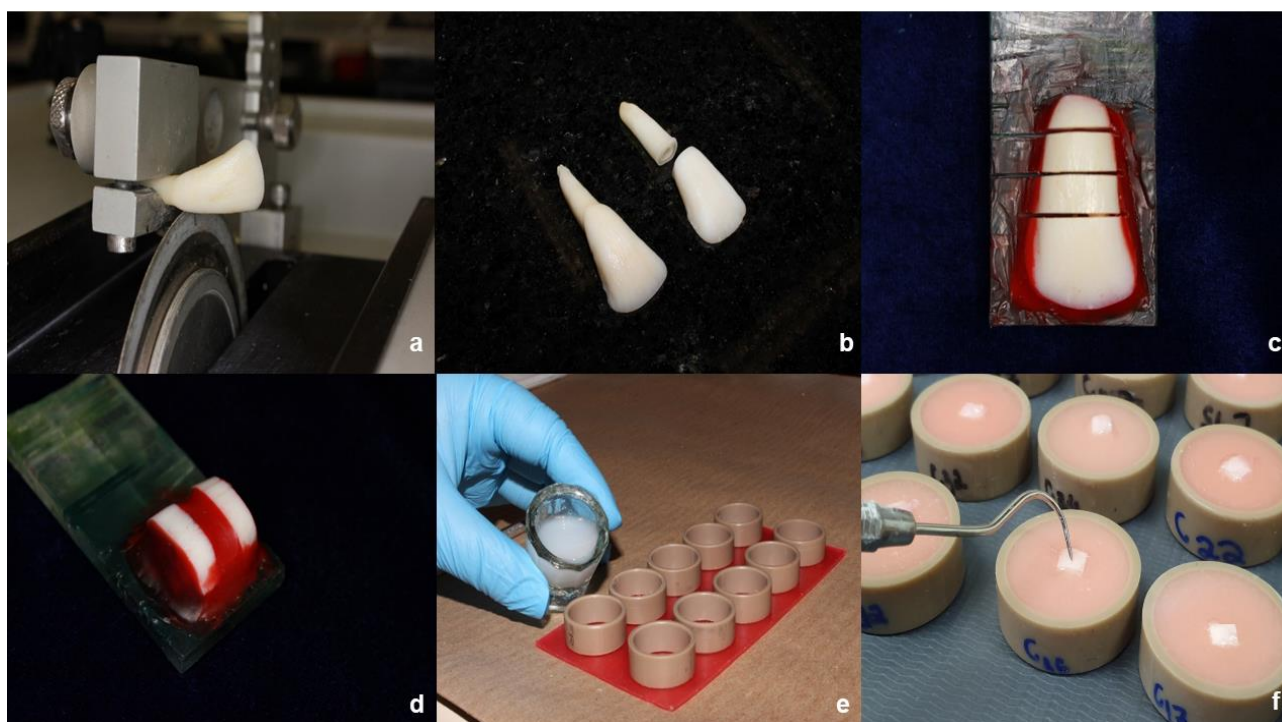
Foram utilizados incisivos bovinos hígidos e conservados em solução de timol 0,1% a temperatura de a 4° C. Os dentes foram limpos com o auxílio de pedra pomes e água com escovas de Robinson e examinados macroscopicamente com auxílio de lupa estereoscópica (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) em aumento de 40 x. Foram selecionados dentes que não apresentassem linhas de fratura ou fissuras profundas na coroa.

Os dentes foram apoiados em cera utilidade e seccionados transversalmente na junção amelocementária para separar as coroas das raízes em máquina de corte metalográfica de precisão (Isomet 1000; Buehler, Alemanha) utilizando discos diamantados. Posteriormente, as coroas foram seccionadas no sentido mesio-distal, obtendo-se 2 fragmentos de esmalte da face vestibular (5 x 5 x 3mm). Para que se obtivesse a amostra de 110 fragmentos padronizados, foram realizadas três leituras nas laterais dos fragmentos derivados dos incisivos, com distância de 30 µm da superfície e a 100 µm uma da outra no microdurômetro HMV 2000 (Shimadzu Microhardness Tester, Kyoto, Japão), com célula de carga 25 g durante 5 segundos. A média das três medidas foi utilizada como valor de microdureza do fragmento, sendo que os fragmentos que apresentassem valores médios 20% inferiores ou superiores ao valor da média geral de todos os fragmentos foram descartados.

### **Preparo dos fragmentos dentais**

A superfície de esmalte foi planificada com lixas d'água de carbureto de silício (Norton; Lorena, SP, Brasil), em granulações decrescentes (#600, 800 e 1200), sob irrigação, a fim de se padronizar a superfície. Em seguida, foram polidas com pastas de alumina de granulação de 6, 3 1 e 0,25 µm (Arotec; Cotia, SP, Brasil) em feltro polidor

(ATM, Altenkirchen, Alemanha) através de politriz refrigerada (APL-4; Arotec, Cotia, SP, Brasil), com o objetivo de padronizar a *smear layer*. Após a regularização da superfície, todos os espécimes foram submetidos aos testes propostos ( $t_0$ ): microdureza da superfície, análise do percentual atômico de Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Oxigênio (O<sub>2</sub>), análise qualitativa da morfologia da superfície por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura e análise da rugosidade superficial. As amostras foram incluídas em resina acrílica autopolimerizável (JET-Clássico, São Paulo, SP, Brasil), com auxílio anéis de PVC, de maneira que a superfície de esmalte extracoronário permanecesse voltada ao meio externo (Figura 3).

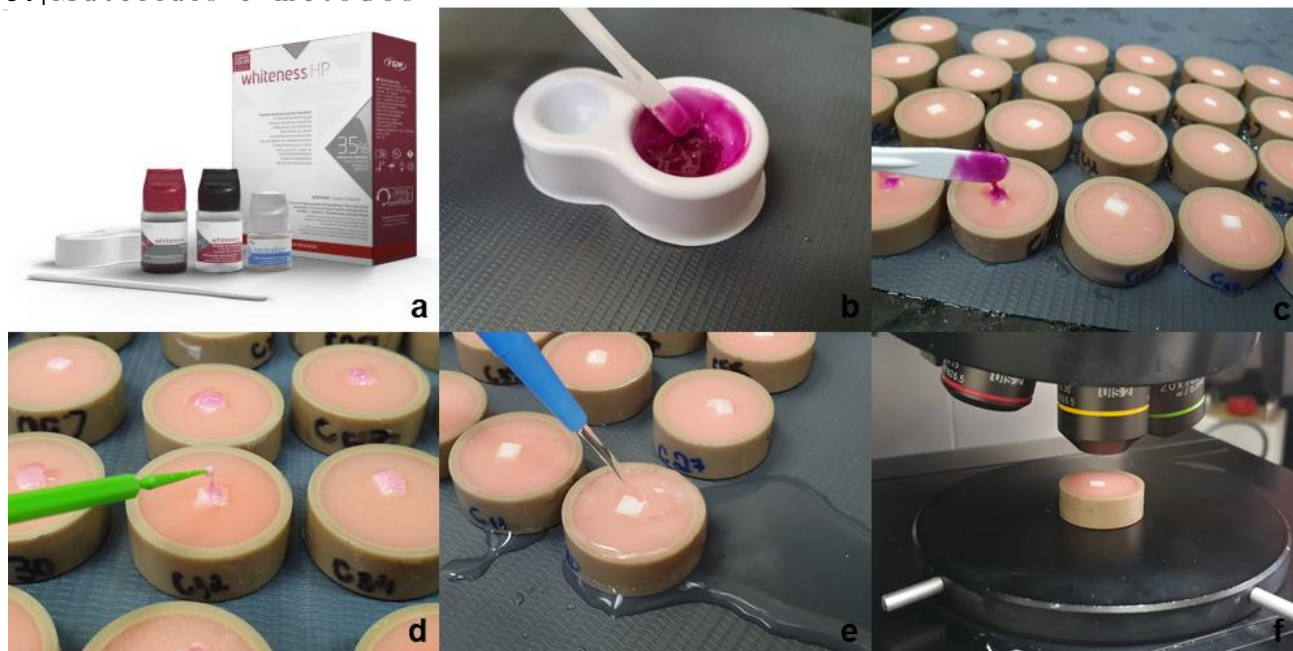


**Figura 3.** a. Dentes bovinos posicionados para corte em máquina de corte; b. Raízes de incisivos bovinos seccionadas; c. Fragmentos obtidos; d. Fragmentos antes de polimento e finalização; e. Aplicação de resina acrílica em tubos de PVC; f. Espécimes finalizados sendo inspecionados.

### **Protocolo clareador**

Após o preparo os espécimes foram armazenados a 37°C com gaze embebida em saliva artificial (DaTerra, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O agente clareador utilizado foi o peróxido de hidrogênio a 35% (Clareador Whitheness HP 35%, FGM, Joinville, SC, Brasil). Os protocolos de clareamento foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante. Foram realizadas três aplicações de 15 minutos cada, com intervalos de 5 minutos entre as aplicações e troca do gel clareador a cada aplicação. O gel foi movimentado periodicamente sobre a superfície dos dentes com instrumento explorador (Duflex SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), a fim de eliminar as bolhas de oxigênio durante o processo de clareamento. Após as três aplicações, o agente clareador foi completamente removido da superfície com gaze umedecida por água destilada, para que se proceda o tratamento pós-clareamento.

Todos os espécimes foram submetidos novamente aos testes propostos (t1): microdureza da superfície, análise da rugosidade, análise do percentual atômico de Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Oxigênio (O<sub>2</sub>) (EDS); e análise qualitativa da morfologia da superfície (MEV).



**Figura 4.** a. Whitening HP 35% (FGM); b. Substância clareadora em processo de manipulação; c. Aplicação inicial da substância clareadora; d. aplicação com *micro-brush*; e. Lavagem após uma das aplicações do tratamento clareador; f. Espécime posicionado em microscópio confocal de varredura a laser para o teste de rugosidade superficial.

### Divisão dos grupos experimentais

Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de acordo com o tratamento pós-clareamento: GI - dentifrício fluoretado (1450ppm, Colgate); GII - dentifrício SCFS (Regenerate, Unilever); GIII - dentifrício SCFS (Regenerate, Unilever) + gel SCFS (Regenerate Boosting Serum Gel, Unilever); GIV - dentifrício fluoretado (1450ppm, Colgate) + aplicação de gel fluoretado (Flugel neutro, NaF 2%).

### Tratamento pós-clareamento

Os espécimes foram submetidos a escovação, três vezes ao dia, durante sete dias, por três minutos, com velocidade de 2 movimentos por segundo, utilizando-se escovas de cerdas macias (Slim Soft, Colgate-Palmolive, Osasco, SP, Brasil) (Da Silva et al, 2013; Turgut et al, 2018). Foi empregada a máquina de escovação (Biopdi, São Carlos, São Paulo, Brasil), realizando movimentos de direção horizontal. A cada minuto de escovação

0,5g de cada dentifrício foi utilizado. Foi empregada 200 gramas de peso sobre a cabeça de cada escova de dente. Foi utilizado dentifrícios com água destilada na proporção 1:2 em peso. Nos Grupos GI e GII foram realizadas apenas as escovações dos espécimes com seus respectivos dentifrícios. Para os espécimes dos grupos GIII e GIV, além do procedimento de escovação, foram instituídas três aplicações de gel fluoretado e Regenerate Boosting Serum gel, respectivamente, com duração de 3 minutos, uma vez ao dia, durante um período de 3 dias seguidos, com auxílio de aplicador descartável microbrush (KG Brush Regular, KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil).

### **Microdureza superficial do esmalte**

Após o término de cada fase, os espécimes destinados ao teste de microdureza foram polidos em politriz com lixa d'água (#1200), observados em microscópio óptico para verificar a lisura superficial e submetidos à limpeza em ultrassom por 2 minutos. O teste de microdureza superficial do esmalte foi realizado em microdurômetro (HMV-2000; Shimadzu microhardness tester, Kyoto, Japão). Em cada amostra foram realizadas três medidas no centro do fragmento através de penetrador de diamante para dureza knoop (KNH) perpendicular à superfície externa do esmalte, com distâncias de 100 $\mu$ m entre elas. Foi utilizada carga estática de 25 gramas com duração de 5 segundos para fazer as identações piramidais (Loiola et al., 2016). Foram avaliadas as médias das três tomadas de microdureza. As medidas foram obtidas em três momentos, antes do procedimento clareador (t0), logo após o clareamento (t1) e posteriormente aos tratamentos remineralizantes (t2).



### Rugosidade superficial do esmalte

A rugosidade superficial do esmalte foi realizada por meio de microscópio confocal a laser modelo LEXT OLS4000 (Olympus, Tóquio, Japão). Os espécimes foram posicionados paralelamente à mesa do microscópio com auxílio de paralelômetro e foram adquiridas imagens com aumento de 20x. Após a obtenção das imagens, foram realizadas análises de perfil de desgaste e rugosidade. Os dados foram fornecidos em ( $\mu\text{m}$ ) e obtidos em software específico (Olympus LEXT OLS4000).



**Figura 5.** a. Máquina de esovação utilizada no presente estudo; b. espécimes posicionados na máquina de escovação; c. espécimes posicionados com a adição do *slurry*; d. Regenerate™ Boosting Serum Gel; e. Aplicação de tratamento de superfície pós-clareamento; f. espécime posicionado em máquina de ensaio para o teste de microdureza Knoop (KNH).

### Composição química do esmalte por espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Para a análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foi verificada a porcentagem de cálcio, fósforo, oxigênio e flúor encontrados na composição superficial dos



espécimes, além da confecção de um espectro demonstrando a distribuição desses elementos. Foi utilizada uma amostra de 5 espécimes de cada grupo de estudo.

Foi empregado o detector de Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS) (EVO 50; Carl Zeiss, Cambridge, Inglaterra) pertencente ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Ribeirão Preto, SP. Para esta análise, foi utilizado um aumento de 300x, utilizando uma distância de trabalho (wd) de 8,5 mm e voltagem de aceleração do feixe de elétrons de 20,00 kV e detector de comprimento químico BSD.

### **Morfologia de superfície por microscopia eletrônica de varredura**

Para a análise de morfologia de superfície por microscopia eletrônica de varredura, os fragmentos tiveram suas faces polidas com lixa d'água de granulação decrescente (#600 e 1200) e pano de polimento úmido em fibra sintética por 30 segundos (Buehler, São Paulo, SP, Brasil) com pastas de alumina de granulação de 0,3  $\mu\text{m}$  e 0,05  $\mu\text{m}$  (Arotec, Cotia, SP, Brasil) por 3 minutos cada com feltro polidor (ATM, Altenkirchen, Alemanha).

Em seguida, os espécimes foram lavados com água destilada em cuba ultrassônica (Ultrasonic Cleaner, T-1449-D, OdontoBras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e posteriormente imersos em solução de glutaraldeído 2,5% tamponado com cacodilato de sódio (0,1M) com pH 7,4 por doze horas a 4°C. Os espécimes foram então limpos com auxílio de cuba ultrassônica (Ultrasonic Cleaner T-1449-D, Odontobras, São Paulo, Brasil) e água deionizada pelo período de 10 minutos e secos com papel absorvente. Afim de realizar o procedimento metalização e consecutiva visualização, os espécimes foram desidratados por meio de imersão em solução de etanol em concentrações crescentes de 25, 50 e 75%, por 20 minutos. Em seguida, em solução de etanol a 95% por 30 minutos e 100% por 1 hora. Cinco espécimes de cada grupo foram delimitados para o estudo de morfologia,

sendo fixados por meio de fita adesiva adequada, em *stubs* com as superfícies tratadas voltadas para a face superior. Procedeu-se a metalização com ouro-paladium, utilizando metalizador JSM T330A (JEOL Ltd, Tóquio 190-0012, Japão). Este equipamento operou em tensão de 20KV e realizou-se imagens nos aumentos de 500 e 2000 vezes, das quais foram utilizadas as mais representativas em cada grupo. As fotografias foram analisadas por 2 examinadores cegos quanto aos grupos experimentais e previamente calibrados (Kappa > 0,9).



**Figura 6.** a. Espécimes em processo de recobrimento com ouro-paladium; b. Espécimes fixados em *stubs* e para análise em microscópio eletrônico de varredura; c. Espécimes sendo visualizados e imagens sendo realizadas.

### Análise dos dados

As análises foram realizadas com o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, versão 25.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Os dados da microdureza e rugosidade foram avaliados quanto à sua distribuição (Teste de Shapiro-Wilk) e esfericidade (Teste de Mauchly), considerando-se  $\alpha=0,05\%$ . Optou-se por utilizar as correções de Greenhouse-Geisser para interpretar os resultados da ANOVA de medidas repetidas a dois critérios. O pós-teste selecionado para as análises foi o Bonferroni com nível de significância de 5%. Os dados relativos ao EDS foram analisados por ANOVA e expressos em porcentagem. As fotografias em MEV foram analisadas qualitativamente por 2 examinadores previamente calibrados (Kappa > 0,9).



*Resultados*

---



### **Ensaio de microdureza**

A análise dos dados mostrou diferença significativa para o período de realização da análise ( $p < 0,0001$ ), para o pós-tratamento de superfície ( $p = 0,0230$ ) e também para interação dos fatores ( $p = 0,0109$ ).

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos na microdureza superficial. Foi observado que a aplicação de diferentes dentifrícios e géis remineralizou o esmalte clareado, quando avaliou-se os três momentos ( $t_0$ ,  $t_1$  e  $t_2$ ) ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos não foram estatisticamente diferentes entre si, à exceção do grupo composto por SCFS dentifrício + gel SCFS (GIII), o qual diferiu dos demais e foi o único a restaurar os valores de microdureza semelhantes àqueles obtidos antes do clareamento (Figura 7).

Tabela 2. Médias e desvios-padrões (KHN) da microdureza do esmalte clareado com pH 35%, considerando o pós-tratamento da superfície ( $n = 10$ ).

Grupos	Inicial ( $t_0$ )	Após clareamento ( $t_1$ )	Após tratamento ( $t_2$ )
Colgate Total 12	372,0 ( $\pm 25,36$ ) Aa	195,2 ( $\pm 15,99$ ) Ca	273,7 ( $\pm 43,07$ ) Bb
Dentifrício SCFS	366,1 ( $\pm 22,02$ ) Aa	209,9 ( $\pm 50,45$ ) Ca	258,0 ( $\pm 43,64$ ) Bb
Dentifrício SCFS + Serum SCFS	342,3 ( $\pm 39,05$ ) Aa	223,4 ( $\pm 63,28$ ) Ba	331,7 ( $\pm 57,03$ ) Aa
Colgate Total 12 + 2% NaF	355,8 ( $\pm 23,37$ ) Aa	201,1 ( $\pm 56,02$ ) Ca	280,1 ( $\pm 33,14$ ) Bb

*Diferentes letras maiúsculas indicam diferença estatisticamente significante dentro da mesma linha ( $p < 0,05$ ).  
Diferentes letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significante dentro da mesma coluna ( $p < 0,05$ ).*

### **Ensaio de rugosidade superficial**

Após a análise dos dados, verificou-se que houve diferença significativa para tempo ( $t_0$ ,  $t_1$  e  $t_2$ ) ( $p < 0,0001$ ). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos realizados ( $p = 0,072$ ). Houve diferença significativa na interação entre *tempo x tratamento* ( $p = 0,0344$ ).

Assim, verificou-se ausência de diferença significativa entre os valores iniciais, para todos os grupos ( $t_0$ ). A rugosidade aumentou após o clareamento ( $t_1$ ). Após os tratamentos de superfície ( $t_2$ ), os valores de rugosidade diminuíram significativamente em todos os grupos ( $p < 0,0001$ ) e retornaram aos valores similares aos verificados antes do clareamento (*baseline*) (Tabela 3).

Tabela 3. Médias e desvios-padrões da rugosidade do esmalte clareado com pH 35%, considerando o pós-tratamento da superfície ( $n = 10$ ).

Grupos	Inicial ( $t_0$ )	Após clareamento ( $t_1$ )	Após tratamentos ( $t_2$ )
Dentifricio Colgate Total 12	0,362 ( $\pm 0,178$ ) Aa	0,539 ( $\pm 0,070$ ) Ba	0,345 ( $\pm 0,141$ ) Aa
Dentifricio SCFS	0,218 ( $\pm 0,063$ ) Aa	0,566 ( $\pm 0,070$ ) Ba	0,183 ( $\pm 0,107$ ) Aa
Dentifricio SCFS + Serum SCFS	0,233 ( $\pm 0,059$ ) Aa	0,432 ( $\pm 0,142$ ) Ba	0,327 ( $\pm 0,087$ ) Aa
Dentifricio Colgate Total 12 + 2% NaF	0,157 ( $\pm 0,039$ ) Aa	0,576 ( $\pm 0,098$ ) Ba	0,303 ( $\pm 0,076$ ) Aa

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença estatisticamente significante dentro da mesma linha ( $p < 0,05$ ).  
Diferentes letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significante dentro da mesma coluna ( $p < 0,05$ ).

### ***Espectroscopia de energia dispersiva e microscopia eletrônica de varredura***

A análise de composição química dos espécimes mostrou que não houve diferenças significativas entre as medidas de oxigênio ( $p=0,6210$ ), cálcio ( $p=0,6210$ ) e fósforo ( $p=0,6210$ ), bem como na relação Ca/P ( $p=0,6210$ ) entre os espécimes antes e após o procedimento de clareamento dental (Tabela 4 e Figura 8). Além disso, posteriormente à aplicação dos tratamentos de superfície, as porcentagens destes elementos nos espécimes não sofreram alterações, à exceção do grupo III, submetido à escovação com dentifrício SCFS e aplicação do gel SCFS. Neste grupo, apesar de não ter sido obtida adição quantitativa do elemento silício (Si) à conjuntura química do esmalte, o mesmo foi visto por meio dos gráficos obtidos durante à análise (Figura 9).

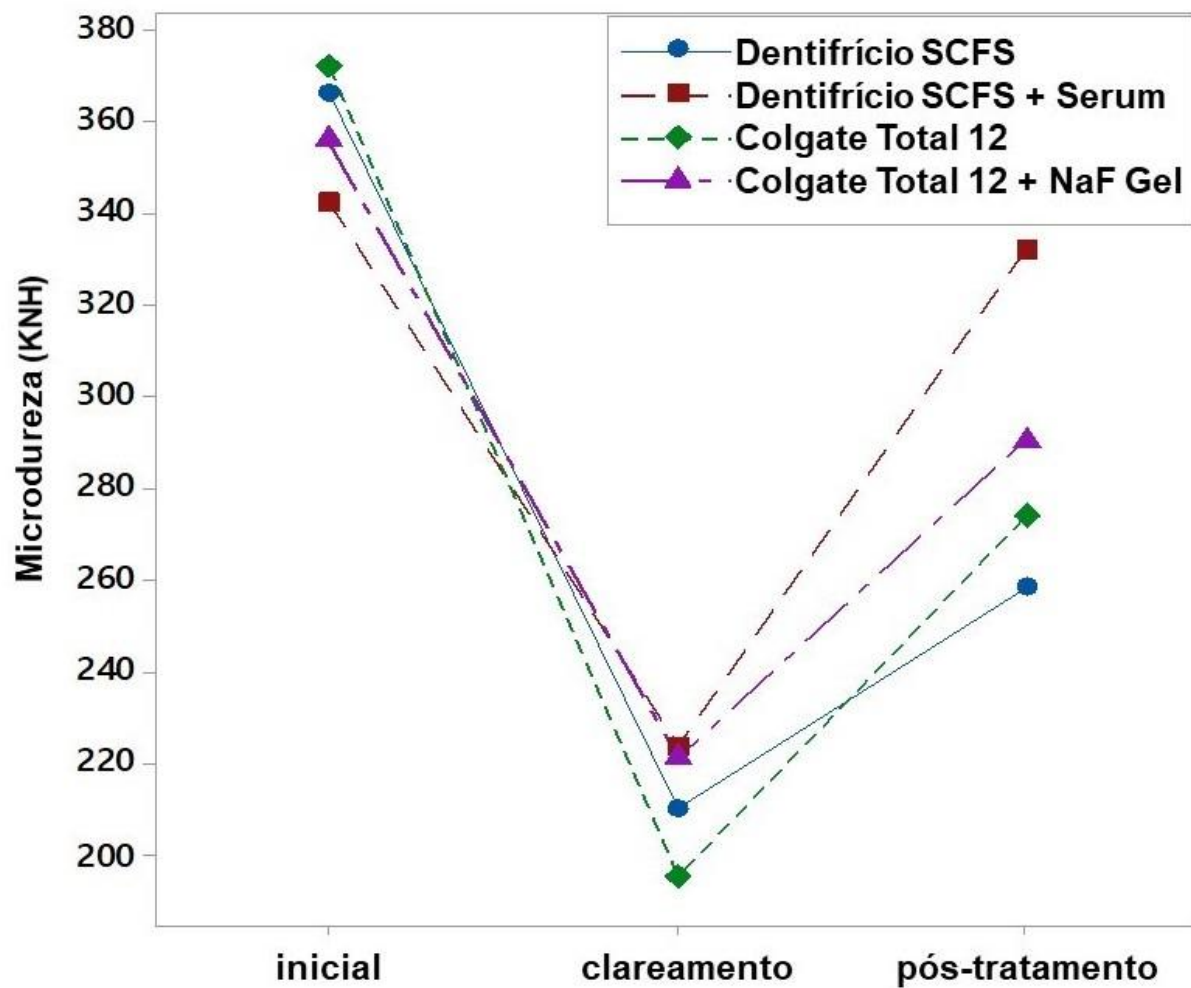
Tabela 4. Valores médios (desvios-padrões) em porcentagem de cálcio, oxigênio e fósforo e relação Ca/P para os grupos estudados, sem diferença significativa entre eles ( $p>0,05$ ).

	<b>Baseline – t<sub>0</sub></b>	<b>Após clareamento – t<sub>1</sub></b>	<b>Dentifrício NaF</b>	<b>Dentifrício SCFS</b>	<b>Dentifrício SCFS + Gel SCFS</b>	<b>Dentifrício NaF + 2% NaF</b>
<b>O</b>	46.99(±2.01)	42.66(±2.54)	49.24(±1,89)	50.20(±2.21)	50.38(±1.24)	51.23(±2.45)
<b>P</b>	20.10(±0.47)	21.03(±0.22)	19.20(±0.74)	19.43(±0.78)	21.57(±1.47)	18.75(±1.51)
<b>Ca</b>	32.89(±1.53)	36.31(2.32)	31.55(±1.15)	30.35(±1.43)	30.02(±2.79)	30.02(±3.72)
<b>Ca/P</b>	1,70 (0,03)	1,78 (0,008)	1,71 (0,03)	1,64 (0,006)	1,60 (0,03)	1,67 (0,05)

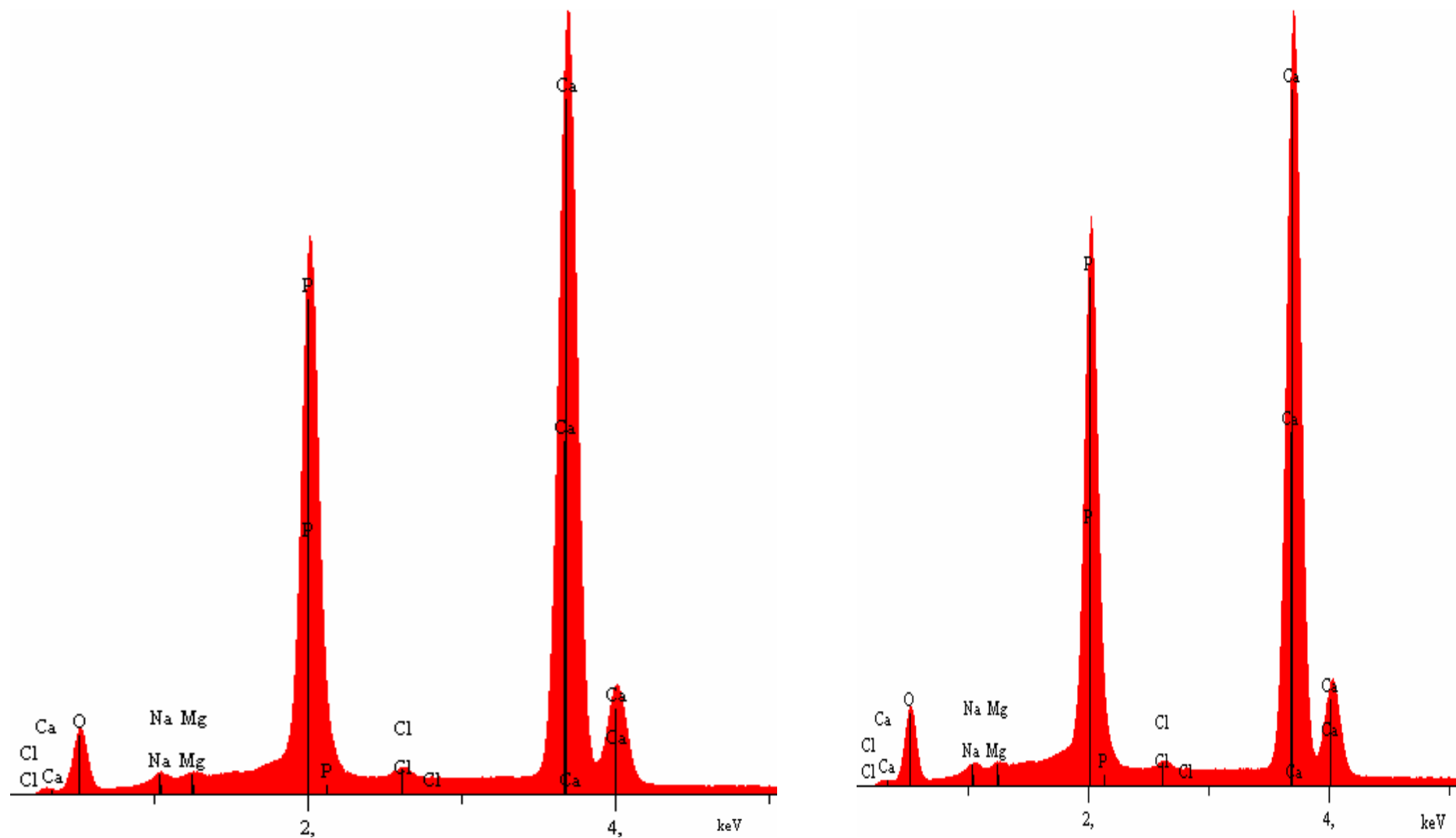


### ***Microscopia Eletrônica de Varredura***

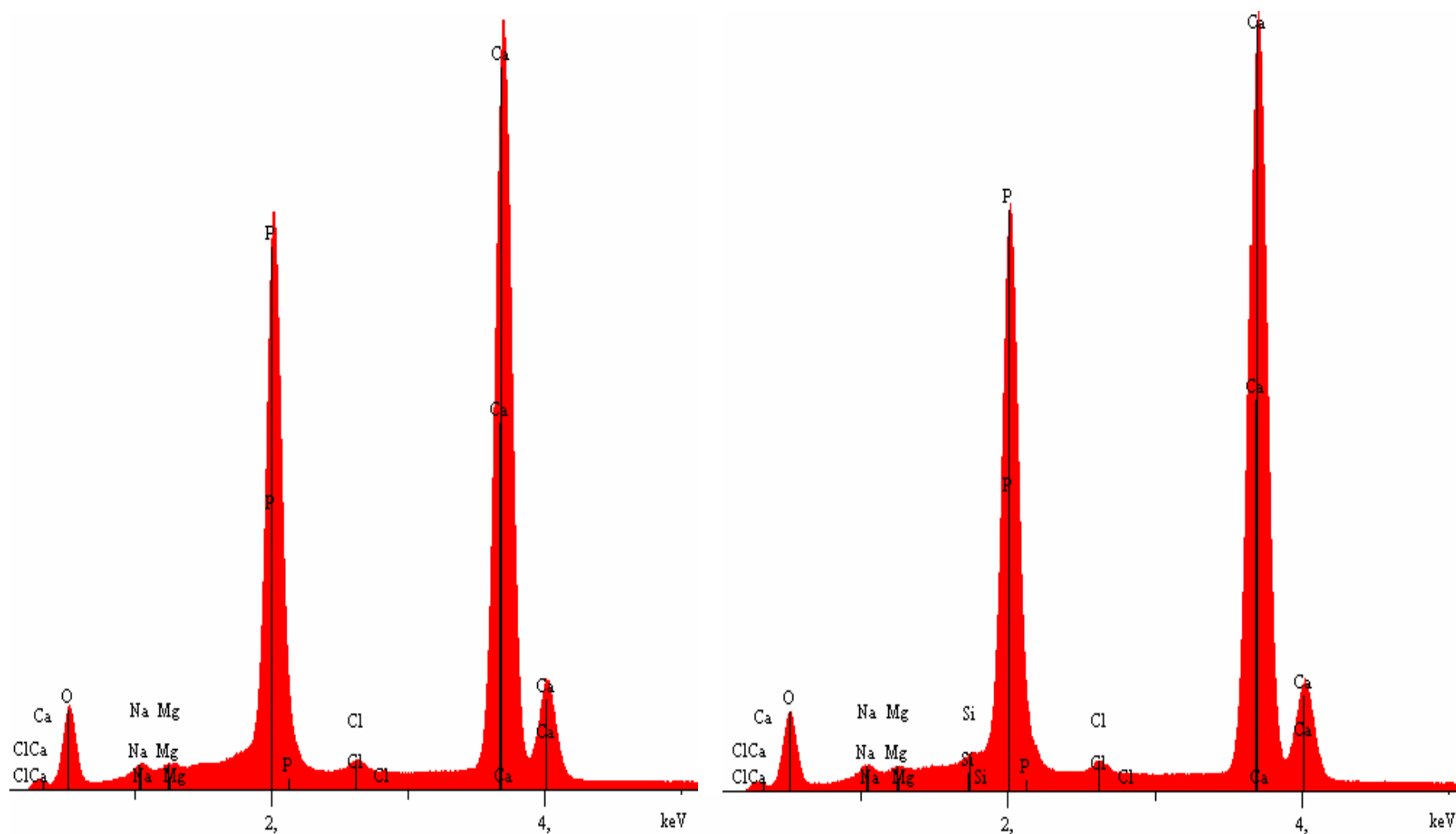
Na avaliação qualitativa das imagens, não foram observadas alterações significativas na morfologia dos espécimes que apresentaram a rugosidade, microfissuras naturais do esmalte dental. Foram observadas imagens sugestivas de precipitação de depósitos de fluoreto de cálcio nos espécimes submetidos aos tratamentos convencionais e de silício (Si-OH) nos grupos expostos aos dentifrícios e géis modificados (Figura 10).



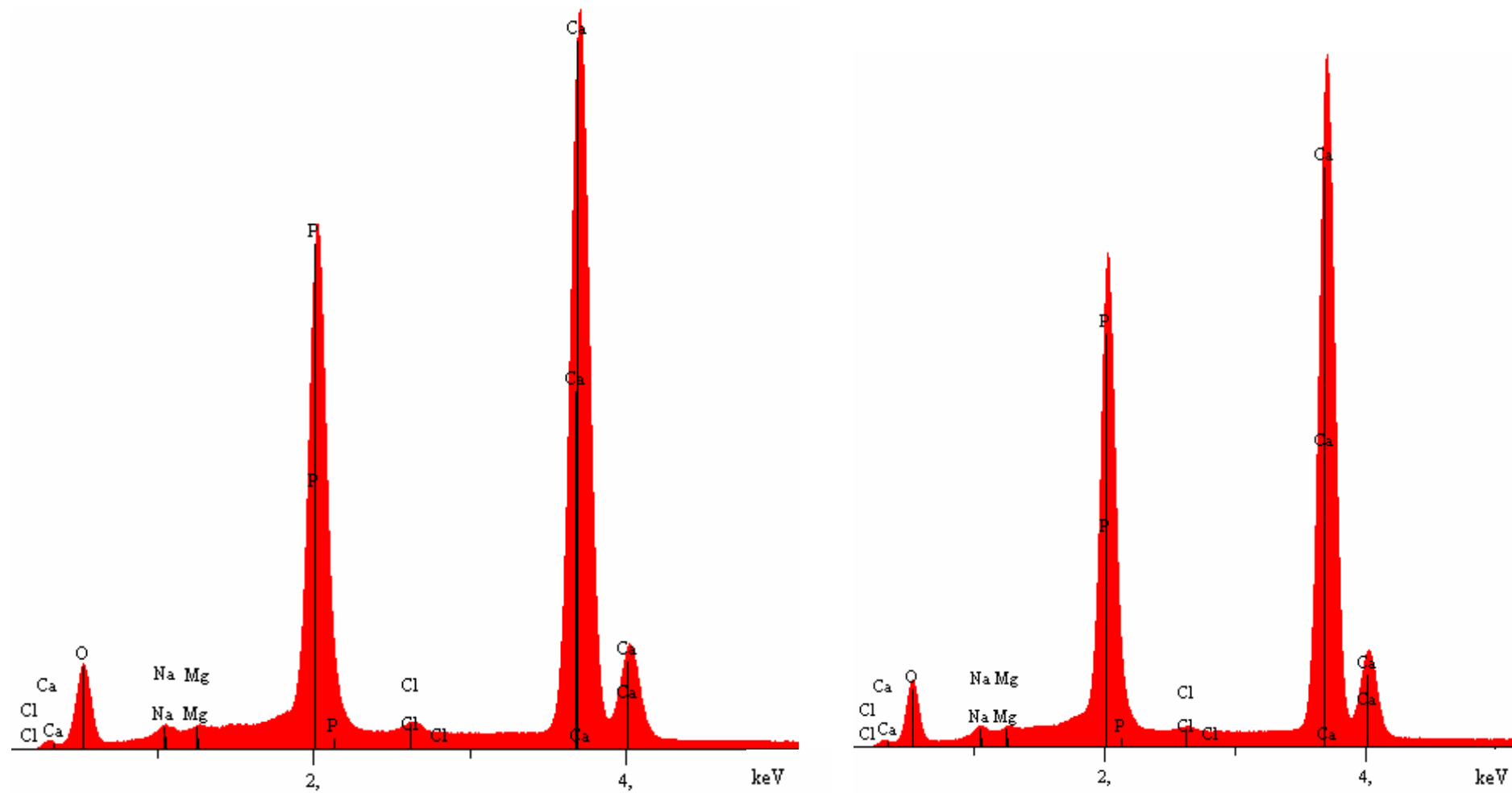
**Figura 7.** Valores médios de microdureza Knoop (KNH), de acordo com os diferentes procedimentos e tempos em que foram conduzidos.



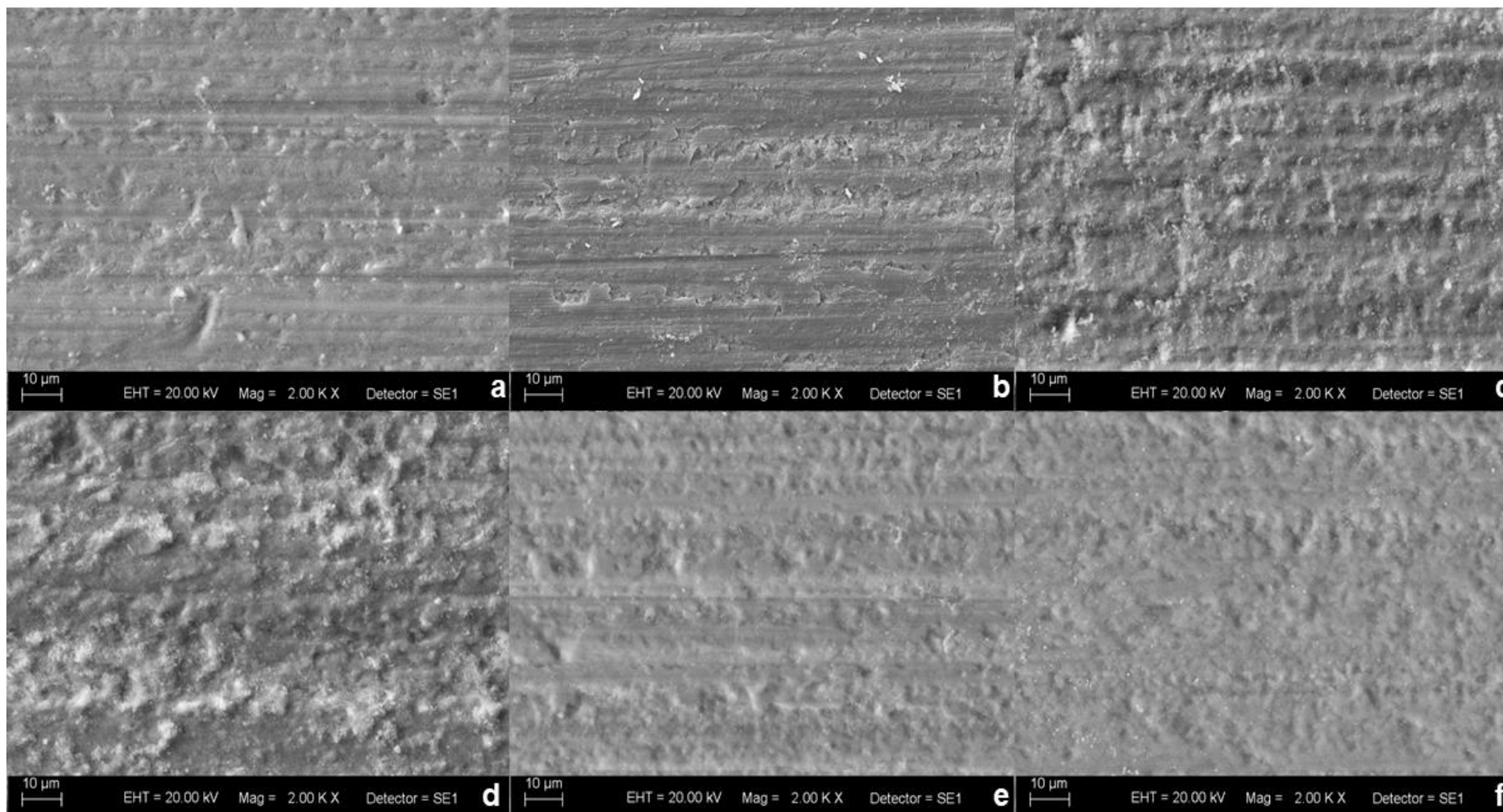
**Figura 8.** Análise de EDS dos espécimes que não sofreram intervenção (esquerda) e que foram submetidos ao tratamento de clareamento dental (direita).



**Figura 9.** Análise de EDS dos espécimes tratados com dentifrício SCFS (esquerda) e tratados com dentifrício SCFS + gel SCFS (direita).



**Figura 10.** Análise de EDS dos espécimes tratados com Colgate Total 12 (esquerda) e tratados com Colgate Total 12 + 2% NaF (direita).



**Figura 11.** Análise de MEV dos espécimes. **a.** não-tratado; **b.** submetido ao clareamento; **c.** Colgate Total 12 + 2% NaF; **d.** Colgate Total 12; **e.** Dentifrício SCFS; **f.** Dentifrício SCFS + gel SCFS.



*D*iscussão

---





A microdureza é um dos testes mais importantes quando se busca avaliar as propriedades mecânicas do esmalte (Mondelli et al., 2015; Zanolla et al., 2017). Apesar das variações que existem nas modalidades com as quais esta avaliação pode ser feita, a literatura demonstra sua validade científica e ela se faz necessária como etapa preliminar às investigações *in-vivo* (Attin et al., 2009; Crastechini et al., 2019). Estudos demonstram que as alterações em seus valores podem diferir severamente no esmalte submetido ao desafio clareador, de acordo com a substâncias utilizadas e protocolo selecionado (Joiner, 2007; Attin et al., 2009; Zanolla et al., 2017). Enquanto que o uso do peróxido de carbamida, na modalidade caseira do tratamento, não altera os valores de microdureza, quando se utiliza o peróxido de hidrogênio, maiores são alterações detectadas (Lewinstein et al., 2004; Joiner., 2007; Attin et al., 2009; Zanolla et al., 2017).

De maneira geral, a microdureza do esmalte sadio pode variar de 300 a 400 (Rodrigues et al., 2005; Mondelli et al., 2015). Diversos fatores podem interferir nessa condição e diferenças são observadas quando o substrato dentário é submetido a desafios desmineralizadores. Frente a desafios erosivos, a alteração da micromorfologia mineral do esmalte pode levar à perda de valores de microdureza da ordem de 12 a 25% (Lewinstein et al., 2004; Magalhães et al., 2012). Como medida de comparação, outro procedimento usado rotineiramente na clínica odontológica, o condicionamento ácido, leva ao recrudescimento de 73% nos valores de dureza do esmalte (Collys et al., 1992). As discrepâncias entre os valores de microdureza pré e pós-clareamento se mantem entre 20 a 40% (Lewinstein et al., 2004; Zanolla et al., 2017; Wood et al., 2018; Crastechini et al., 2019), o que corresponde a variações semelhantes às encontradas no presente estudo, haja vista que as variações consistiram em 34,73% para o G-I, 37,85% (G-II), 42,66% (G-III) e 47,52% (G-IV), o que resultou em uma variação total de aproximadamente 40,69%.

A diminuição dos valores de microdureza também é prejudicial pois aumenta a susceptibilidade do esmalte à abrasão (Khoroushi et al., 2016). Estudos demonstram a existência de correlação negativa entre a microdureza do esmalte desmineralizado e a grandeza de substrato perdido por cargas e desafios abrasivos (Sasaki et al., 2009; Borges et al., 2010; Borges et al., 2016). Isso se torna especialmente prejudicial quando se lida com pacientes portadores de hábitos parafuncionais e que utilizam cremes dentais com partículas mais abrasivas (Borges et al., 2016). Em consequência a esses achados, estudos demonstram que a ação de substâncias remineralizadoras é um recurso viável para diminuir os efeitos deletérios que a desmineralização causa no esmalte (Joiner et al., 2014; Li et al., 2014; Yang et al, 2021), o que corrobora com as descobertas deste estudo, onde a utilização de todos os recursos remineralizadores recuperaram de maneira significativa os valores de microdureza.

É possível determinar, portanto, que o clareamento dental tem como efeito adverso a desmineralização do substrato dentário inorgânico. Isso pode ocorrer por meio de diversos mecanismos, mas sobretudo pelas trocas iônicas e interferências na porção orgânica dessa estrutura (Hegedüs et al., 1999; Joiner, 2006; Shellis et al., 2014). As substâncias encarregadas do processo de oxidação das substâncias cromóforas no esmalte dental são mais comumente o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o peróxido de carbamida ( $CH_6N_2O_3$ ) (Joiner, 2006), que baseiam a sua ação clareadora na quebra de ligações entre moléculas orgânicas cromóforas, oxidando-as, o que gera moléculas mais solúveis e menos pigmentadas (Joiner, 2006; Hermans et al, 2007). O mecanismo de ação destes agentes é, assim, inespecífico, e ainda carece de informações para ser conhecido em sua totalidade, o que auxilia a explicar os efeitos indesejados atrelados ao seu uso (Eimar et al, 2012). Essa ausência de especificidade pode ser melhor entendida devida ao fato de que, ao penetrarem no esmalte através das proteínas presentes em sua estrutura,

os agentes clareadores causam a desestruturação de sua cadeia orgânica peptídica, o que tem efeito na porção mineral correspondente (Joiner et al., 2006; Alqathani et al., 2014). Outro mecanismo por meio do qual os géis clareadores causam a desmineralização do esmalte é o das trocas iônicas que ocorrem entre as duas substâncias (Alexandrino et al., 2014). O esmalte se comporta como um sólido imerso em uma solução, onde permutas iônicas acontecem constantemente entre as substâncias, situação esta que permanece ocorrendo até que surja a obtenção de um equilíbrio. Os géis clareadores não possuem uma quantidade suficiente de íons ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{PO}^{3-4}$  e  $\text{OH}^-$ ) para se manter em uma situação de equilíbrio em relação ao esmalte dental. De fato, o gel, quando em contato com o dente, leva o esmalte a ceder os íons para a solução, afim de restabelecer o equilíbrio entre as duas substâncias. Conseqüentemente, o esmalte sofre desmineralização (Dorozhkin, 2012; Shellis et al., 2014; Crastechini et al., 2019).

A literatura confirma a capacidade desmineralizadora dos géis clareadores, tanto em formulações com pH alto, quanto aquelas com valores baixos ou neutros. No entanto, essa ação pode ser potencializada pela utilização de géis com pH ácido (Magalhães et al., 2012; Sa et al., 2013; Acuña et al., 2019). Em contrapartida, estudos demonstram que a saliva possui potencial remineralizador, assim como outras propriedades que contribuem para manter o equilíbrio mineral da cavidade oral (Moritsuka et al., 2006; Buzalaf et al., 2012; Heshmat et al., 2016). É possível constatar, no entanto, que essa regeneração pode levar um período considerável (15 dias) para acontecer, o que deixa o esmalte dental passível a sofrer maiores danos abrasivos e conseqüente perda mineral, especialmente em pacientes que utilizam cremes dentais com a presença de partículas mais abrasivas ou forças de escovação excessivas (Araújo et al., 2013). A aplicabilidade de recursos remineralizantes que contribuam com esse processo deve ter, portanto, papel de destaque dentro desse panorama.

A ação das substâncias remineralizadoras se baseia em mecanismos que recuperam a condição saturada do esmalte em relação aos íons minerais de sua composição (cálcio, fosfato, hidroxila etc.) (Li et al., 2014; China et al., 2014). As substâncias fluoretadas agem a partir da formação de depósitos de fluoreto de sódio, que liberam íons fluoreto em condições de diminuição do pH oral, levando ao restabelecimento do equilíbrio iônico e à formação de fluorapatita e apatita fluoretada, que são menos susceptíveis aos desafios desmineralizadores (Dorozhkin, 2012). No entanto, as substâncias que contêm SCFS agem de maneira distinta. Correlatamente, as mesmas formam depósitos no substrato dental, porém, posteriormente à troca de íons com o fluido oral, estes se tornam carregados negativamente e impregnados pela formação de grupos silanol (Si-OH) e óxido de silício (Si-O) em sua superfície (Sun et al., 2014). Os íons cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), carregados positivamente, atraem-se em direção a esse depósito. A ação conjunta dos íons fosfato neste cenário incorre em uma condição de supersaturação, o que leva à nucleação e deposição de cristais de hidroxiapatita na superfície do esmalte (Li et al., 2014; Sun et al., 2014; Parker et al., 2014; Crastechini et al., 2019). Esses achados somados podem explicar o efeito remineralizador que a aplicação de dentifrício associada ao sérum, ambos contendo SCFS, promoveram no esmalte clareado. É interessante notar que diversos estudos, através de exames de imagem como espectroscopia RAMAN, FTIR, microscopia eletrônica de varredura e difusão de elétrons demonstraram que a formação destes depósitos de silício de fato ocorre (Parker et al., 2014; Joiner et al., 2014; Sun et al., 2014).

Em estudo mais recente avaliando a ação de gel e dentifrício com SCFS após um ensaio de escovação simulada, foi observada a recuperação nos valores de microdureza, assim como a diminuição da susceptibilidade à abrasão dental pós-clareamento, o que vai de encontro aos achados do presente estudo (Crastechini et al., 2019).. Outro estudo que

avaliou a ação do mesmo dentifrício com SCFS, e também a ação de um creme dental contendo vidro bioativo, mostrou que o potencial remineralizador do SCFS foi superior, elevando os valores de microdureza do esmalte clareado de volta aos padrões antes da aplicação de gel de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (El-Damanhoury et al., 2021). Um fator que pode estar relacionado a esse resultado é a utilização de gel clareador com grande quantidade de íons fluoreto (10.000ppm). Esses resultados confirmam o que foi encontrado pelo presente estudo, onde a associação do dentifrício contendo SCFS e o gel correspondente foram os únicos tratamentos capazes de restabelecer os valores de microdureza àqueles antes do clareamento.

O potencial anti-erosivo das formulações contendo SCFS foi avaliada, dos dentifrícios dessensibilizantes, dentifrícios convencionais e saliva humana, onde os espécimes de dentes humanos foram submersos em ácido cítrico 0,3% por 2 minutos (João-Souza et al., 2019). Os resultados demonstraram que os dentifrícios foram capazes de diminuir a permeabilidade dentinária sem diferença significativa entre os mesmos, enquanto a saliva humana aumentou a os valores desta propriedade da dentina, demonstrando outra capacidade desejável do silicato de cálcio (João-Souza et al., 2019). Em estudo recente, o dentifrício com silicato de cálcio produziu menos perda de esmalte após desafios erosivos, (Ionta et al., 2019). Dessa maneira, é possível verificar que, frente a condições intensas de desmineralização e desgaste, os dentifrícios com formulação diferenciada demonstraram bons resultados, o que reforça os achados do presente estudo. No mesmo contexto, Wood e colaboradores (2018) observaram que a ação combinada de pasta e gel a base de fosfato de s[ódio e silicato de cálcio foi eficiente e reestabeleceu a condição mineral original do esmalte . Assim especula-se quetanto em casos de erosão quanto de desmineralização por clareamento, o silicato de cálcio e fosfato de sódio fornecem adequada remineralização.

A avaliação da rugosidade superficial neste contexto também se faz essencial, visto que autores tem reportado que o aumento nos valores desta propriedade do esmalte pode criar condições mais favoráveis para a colonização bacteriana, gerando maior presença de biofilme em áreas desmineralizadas, acrescendo o risco do desenvolvimento de lesões cariosas (Mirzaie et al., 2016; Attia et al., 2016). Mudanças micromorfológicas desse caráter também podem acarretar maior susceptibilidade ao manchamento dental extrínseco, processo esse que vai de encontro aos objetivos pretendidos durante o clareamento dental, comprometendo, assim, sua eficácia (Ittatur et al., 2014; Favaro et al., 2020). Nesse sentido, a utilização de gel com silicato de cálcio e fosfato de sódio já demonstrou efeito protetor contra o efeito de pigmentação de refrigerantes (Carneiro et al., 2019). Adicionalmente, foi reportada correlação negativa entre aumentos em porosidade, degradação da matriz orgânica e alteração no padrão de distribuição dos cristais de esmalte com o clareamento dental (Ittatur et al., 2014; Attia et al., 2016). No entanto, há a escassez de estudos que comparem a ação de dentifrício e gel com SCFS na rugosidade do esmalte submetido a tratamentos clareadores.

O estudo mais recente desse aspecto mostrou que, dentifrício e gel SCFS foram capazes de restabelecer os valores normais de rugosidade pós clareamento, enquanto um dentifrício contendo vidro bioativo não foi capaz de demonstrar o mesmo resultado (El-Damhoury et al., 2021). Estudos em condições similares mostram que esse aumento pode chegar a valores de 0,500  $\mu\text{m}$ , comparado a valores controle de 0,95  $\mu\text{m}$ , aumentando progressivamente a susceptibilidade ao manchamento (Sasaki et al., 2015; Da Cunha et al., 2018). A presente investigação foi capaz de detectar variações similares, onde a rugosidade pós-clareamento chegou a alcançar valores médios de 0,528  $\mu\text{m}$ . Em outros estudos, a utilização de tratamentos remineralizadores com gel de 2%  $\text{NaF}_2$ , gel de caseína fosfato de cálcio fosfopeptídeo amorfo, dentifrício convencional e géis de flúor de

alta concentração (5000ppm) foram capazes de recuperar os valores de rugosidade superficial do esmalte que havia sido aumentada após o clareamento (Heshmat et al., 2014; Da Cunha et al., 2018; Hauss Monteiro et al., 2019).

A ausência de diferença entre os grupos no aspecto da rugosidade, provavelmente ocorreu em função da escovação na máquina simuladora, o que provavelmente promoveu uma superfície mais lisa e polida para todos os grupos. Estudos que mostram diferença de rugosidade entre os materiais não utilizam escovação simulada (citar ref)

Em função da composição quase que estritamente inorgânica do esmalte, a questão de se o tratamento de clareamento dental poderia levar à alteração da composição química deste elemento se faz necessária. Os cristais de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) são o principal elemento dessa composição, enquanto outros (Cl, K, Na, Mg, Cu, Pb e F) são incorporados ao longo do tempo (Little et al., 1966). A análise de EDS é largamente utilizada quando se estuda a composição de tecidos e estruturas minerais (Coceska et al., 2016; Vieira-Junior et al., 2018; Llana et al., 2019). Um dos aspectos mais analisados são as proporções exibidas entre Ca/P, assim como a presença de oxigênio dentro da matriz, sendo que essa relação parece se manter em valores normais quando a proporção de Ca é maior em comparação a de P (Coceska et al., 2016; Vieira-Junior et al., 2018; Llana et al., 2019). Estudos mostram que aplicações diárias de 30 minutos durante 2 semanas afetou essa razão de maneira significativa, resultando na diminuição da porcentagem de P e aumento na de O (Cakir et al., 2011). No entanto, outros estudos contradizem essa conclusão (Eskelsen et al., 2018; Kutuk et al., 2018; Pinelli et al., 2019; Farawati et al., 2019). Consequentemente, parecem existir inconsistências na literatura quanto ao real impacto dos tratamentos clareadores nessa composição. Após a avaliação da relação Ca/P em esmalte clareado submetido a tratamento remineralizador com dentifrício e gel com SCFS e outro dentifrício contendo vidro bioativo, notou-se a restauração dos valores



àqueles encontrados antes da aplicação de géis clareadores (El-Damanhoury et al., 2021). Quando foram testados outros mecanismos de remineralização, como dentifrícios contendo arginina e vidro bioativo, gel de caseína fosfato de cálcio fosfopeptídeo amorfo e géis contendo íons fluoreto e cálcio em sua formulação, observou-se que composição inorgânica do substrato dentário permaneceu inalterada (Vieira-Junior et al., 2018; Cavalli et al., 2018).

Em consonância com esses achados, o presente estudo também não detectou alterações na composição mineral do esmalte tanto após a aplicação dos agentes clareadores, quanto dos tratamentos de superfície. Isso pode se dar ao fato de que o tempo de exposição ao peróxido não foi suficiente para causar mudanças. A exceção ficou a cargo do GIII, onde foi possível observar a adição de silício à estrutura dentária, o que valida o mecanismo de ação dos agentes remineralizantes à base de silicato de cálcio e fosfato de sódio (Xi et al., 2014; Joiner et al., 2014., Hornby et al., 2014). As mudanças micromorfológicas causadas pelo clareamento, assim como a recuperação da mesma, propiciada pelos tratamentos, o que é suportado por estudos que também realizaram imagens MEV de superfícies submetidas a condições similares (Eskelsen et al., 2018; Wood et al., 2018)

Perante essas descobertas, averigua-se que o alto potencial remineralizador, anti-abrasivo e anti-erosivo das pastas contendo silicato de cálcio e fosfato de sódio é significativo em diversas propriedades do substrato dentário, todavia, seu mecanismo de ação mais sofisticado, levando em conta o caráter *in-vitro* do presente estudo e das pesquisas mencionadas, não parece demonstrar ação mais efetiva. Isto posto, a constante investigação desses métodos de remineralização se faz necessária, de modo que a análise de seus efeitos sobre outras propriedades físicas e mecânicas do esmalte ainda não

elucidadas e carecem ainda de estudos clínicos que complementem os achados laboratoriais.



*Conclusão*

---



Em consonância com os resultados encontrados nesse estudo e a literatura disponível e considerando as limitações inerentes a um delineamento laboratorial, pode-se concluir que:

1. A aplicação de peróxido de hidrogênio a 35% levou à diminuição significativa da microdureza do esmalte dental;
2. A aplicação de peróxido de hidrogênio a 35% levou ao aumento de rugosidade superficial do esmalte;
3. Todos os tratamentos remineralizadores de superfície foram capazes de recuperar as condições de microdureza e rugosidade do esmalte; porém o único tratamento capaz de restaurar os valores de microdureza semelhantes aos de antes do clareamento foi a associação entre dentifrício SCFS e SCFS gel;
4. Não houve alteração significativa na composição química do esmalte após o clareamento e tratamentos de superfície.
5. Não houve alteração significativa na morfologia do esmalte após o clareamento e tratamentos de superfície.



# *Referências bibliográficas*

---





- Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J.* 2014;26(2): 33–46.
- Acuña ED, Parreiras SO, Favoreto MW, Cruz GP, Gomes A, Borges CPF, Loguercio AD, Reis A. In-office bleaching with a comercial 40% hydrogen peroxide gel modified to have different pHs: color change, surface morphology and penetration of peroxide into the pulp chamber. *J Esthet Restor Dent.* 2019;1-6.
- Alexandrino L, Gomes Y, Alves E, Costi H, Rogez H, Silva C. Effects of a bleaching agent with calcium on bovine enamel. *Eur J Dent.* 2014;8(3):320-325.
- Araújo NC, da Costa Soares MU, Nery MM, Sales WS, Gerbi ME. Effect of ph values of two bleaching gels on enamel microhardness. *Gen Dent.* 2013;61(4):55-58.
- Arumugam MT, Nesamani R, Kittappa K, Sanjeev K, Sekar M. Effect of various antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2014; 17(1): 22–26.
- 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;25(2):143-157.
- Attia R, Kamel M. Changes in surface roughness of bleached enamel by using different remineralizing agents. *Tanta Dent J.* 2016;13(4):179-186.
- Bezerra-Júnior DM, Silva LM, Martins LM, Cohen-Carneiro F, Pontes DG. Esthetic rehabilitation with tooth bleaching, enamel microabrasion, and direct adhesive restorations. *Gen Dent.* 2016;64(2):60-64.
- Buzalaf MAR, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(5):493-502.

- Bittencourt ME, Trentin MS, Linden MS, de Oliveira Lima Arsati YB, França FM, Flório FM. Influence of in situ post bleaching times on shear bond strength of resin based composite restoration. *J Am Dent Assoc.* 2010;41(3):300–306.
- Borges AB, Yui KCK, D’Avila TC, Takahashi CL, Torres CRG, Borges ALS. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Oper Dent.* 2010;35(2):180-186.
- Borges AB, Santos LF, Augusto MG, Bonfietto d, Hara AT, Torres CR. Toothbrushing abrasion susceptibility of enamel and dentin bleached with calcium-supplemented hydrogen peroxide gel. *J Dent.* 2016;49:54-59.
- Briso AL, Rahal V, Sundfeld RH, dos Santos PH, Alexandre RS. Effect of sodium ascorbate on dentin bonding after two bleaching techniques. *Oper Dent.* 2014;39(2):195-203.
- Burrows S. A review of the safety of tooth bleaching. *Dent Update.* 2009;36(10):604-606, 608-610, 612-614.
- Cakir FY, Korkmaz Y, Firat E, Oztas SS, Gurgan S. Chemical analysis of enamel and dentin following the application of three different at-home bleaching systems. *Oper Dent.* 2011;36(5):529-536.
- Carneiro G, Monteiro D, Rodrigues M, Yamauti M, Moreira A, Magalhães C. Color change of the bleached enamel treated with calcium-silicate-sodium-phosphate-sodium monofluorophosphate-based system. *J Clin Exp Dent.* 2019;11(4):e353-e359.
- Cavalli V, Rosa DAD, Silva DPD, Kury M, Liporoni PCS, Soares LES, Martins AA. Effects of experimental bleaching agents on the mineral content of sound and demineralized enamels. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170589.
- China AL, Souza NM, Gomes YS, Alexandrino LD, Silva CM. Effect of fluoride gels on microhardness and surface roughness of bleached enamel. *Open Dent J.* 2014;8:188-193.

- Chisini LA, Cademartori MG, Collares K, Pires ALC, Azevedo MS, Corrêa, Demarco FF. Desire of university students for esthetic treatment and tooth bleaching. *Braz oral res.* 2019; 18:e191648.
- Coceska E, Gjorgievska E, Coleman NJ, Gabric D, Slipper IJ, Stevanovic M, Nicholson JW. Enamel alteration following tooth bleaching and remineralization. *J Microsc.* 2016;262(3):232-244.
- Collys K, Slop D, Cleymaet R, Coomans D, Michotte Y. Load dependency and reliability of microhardness measurements on acid-etched enamel surfaces. *Dent Mater.* 1992;8(5):332-335.
- Crastechini E, Borges AB, Torres C. Effect of Remineralizing Gels on Microhardness, Color and Wear Susceptibility of Bleached Enamel. *Oper Dent.* 2019;44(1):76-87.
- de Arruda AM, dos Santos PH, Sundfeld RH, Berger SB, Briso AL. 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;37(5):518-525.
- da Costa Soares MU, Araújo NC, Borges BC, Sales Wda S, Sobral AP. Impact of remineralizing agents on enamel microhardness recovery after in-office tooth bleaching therapies. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(2):343-348.
- da Cunha FB, Rodrigues ESBH, Freitas de Paula BL, Alencar CM, de Albuquerque Jasse FF, Silva CM. Effect of high concentrated fluoride-based dentifrice on the hardness, roughness, and color of the bleached enamel. *J Conserv Dent.* 2018;21(4):433-437.
- da Silva EM, Dória J, Da Silva JDJR, Santos GV, Guimarães JGA, Poskus LT. Longitudinal evaluation of simulated toothbrushing on the roughness and optical stability of microfilled, microhybrid and nanofilled resin-based composites. *J Dent.* 2013;41(11):1081-1090.

- Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(4):292-304.
- Dionysopoulos D, Tolidis K, Koliniotou-Koumpia E, Gerasimou P. Effect of fluoride treatments on bleached enamel microhardness and surface morphology. *Oral Health & Preventive Dentistry.* 2017;15(2):169-175.
- Divyapriya G, Yavagal P, Veeresh D. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate in dentistry: An update. *International Journal of Oral Sciences.* 2016;6(1):18-25.
- Dorozhkin SV. Dissolution mechanism of calcium apatites in acids: A review of literature. *World J Methodol.* 2012;2(1):1-17.
- Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Armin WM, Martinez PP, Celemin A, Cerruti M, Tamimi F. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing organic structure. *J Dent.* 2012;40 Suppl2: e25-33.
- El-Damanhoury HM, Elsahn NA, Sheela S, Bastaty T. In vitro enamel remineralization efficacy of calcium silicate-sodium phosphate-fluoride salts versus novamin bioactive glass, following tooth whitening. *Eur J Dent.* 2021; 15(03):525-522.
- Eskelsen E, Catelan A, Hernandez NMAP, Soares LES, Cavalcanti AN, Aguiar FHB, Liporoni PCS. Physicochemical changes in enamel submitted to pH cycling and bleaching treatment. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2018;10:281-286.
- Farawati FAL, Hsu SM, O'Neill E, Neal D, Clark A, Esquivel-Upshaw J. Effect of carbamide peroxide bleaching on enamel characteristics and susceptibility to further discoloration. *J Prosthet Dent.* 2019;121(2):340-346.
- Fasanaro TS. Bleaching teeth: History, chemicals and methods used for common tooth discolorations. *J Esthet Dent.* 1992;4(3):71-78.

- Favaro JC, Ribeiro E, Guiraldo RD, Lopes MB, Aranha AMF, Berger SB. Effect of mouthrinses on tooth enamel surface. *J Oral Sci.* 2020;62:103-106.
- Feiz A, Mosleh H, Nazeri R. Evaluating the effect of antioxidant agents on shear bond strength of tooth-colored restorative materials after bleaching: A systematic review. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017;71:156-164.
- Fernandes MT, Vaez SC, Lima CM, Nahsan FP, Loguércio AD, Faria-E-Silva AL. Preemptive Use of Naproxen on Tooth Sensitivity Caused by In-Office Bleaching: A Triple-Blind, Crossover, Randomized Clinical Trial. *Oper Dent.* 2017;42(5):486-496.
- Goldberg M, Grootveld M, Lynch. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: A review. *Clin Oral Investig.* 2010;14(1):1-10.
- Gomes YSBL, Alexandrino SD, Alencar CM, Alves EB, Faial KCF, Silva CM. In-situ effect of nanohydroxyapatite paste in enamel teeth bleaching. *J Contemp Dent Pract.* 2017;18(11):996-1003;
- Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:197-205.
- Hauss Monteiro DD, Valentim PT, Elias DC, Moreira AN, Machado Cornacchia TP, Magalhães CS. Effect of surface treatments on staining and roughness of bleached enamel. *Indian J Dent Res.* 2019;30(3):393-398.
- Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent.* 1999;27(7):509-515.
- Hermans N, Cos P, Maes L, De Bruyne T, Vanden Berghe D, Vlietinck AJ, et al. Challenges and pitfalls in antioxidant research. *Curr Med Chem.* 2007;14(4):417-30.
- Heshmat H, Ganjkar MH, Miri Y, Fard MJK. The effect of two remineralizing agents and natural saliva on bleached enamel hardness. *Dent Res J (Isfahan).* 2016;13(1):52-57.

- Hornby K, Ricketts SR, Philpotts CJ, Joiner A, Schemehorn B, Willson R. Enhanced enamel benefits from a novel toothpaste and dual phase gel containing calcium silicate and sodium phosphate salts. *J Dent.* 2014;42(1):39-45.
- Ionta FQ, Dos Santo NM, Mesquita IM, Dionísio EJ, Cruvinel T, Honório HM, Rios D. Is the dentifrice containing calcium silicate, sodium phosphate, and fluoride able to protect enamel against chemical mechanical wear? An in situ/ex vivo study. *Clin Oral Investig; Clin Oral Invest.* 2019;3713–3720.
- Ittatirut S, Matangkasombut O, Thanyasrisung P. In-office bleaching gel with 35% hydrogen peroxide enhanced biofilm formation of early colonizing streptococci on human enamel. *Dent J.* 2014;42(11):1480-1486.
- João-Souza SH, Scaramucci T, Büehler Borges A, Lussi A, Saads Carvalho T, Corrêa Aranha AC. Influence of desensitizing and anti-erosive toothpastes on dentine permeability: an in vitro study. *J Dent.* 2019;89:103176.
- Joiner A. The bleaching effect of teeth: a review of literature. *J Dent* 2006;34(7):412-419.
- Joiner A, Schäfer F, Naeeni M, Gupta AK, Zero DT. Remineralisation Effect of a Dual-Phase Calcium Silicate/Phosphate Gel Combined With Calcium Silicate/Phosphate Toothpaste on Acid-Challenged Enamel in Situ. *J Dent.* 2014;42(1):53-59.
- Jones SB, Davies M, Chapman N, Willson R, Hornby K, Joiner A, West NX. Introduction of an interproximal mineralisation model to measure remineralisation caused by novel formulations containing calcium silicate, sodium phosphate salts and fluoride. *J Dent.* 2014;42(1):46-52.
- Kemaloglu H, Tezel H, Ergücü Z. Does post-bleaching fluoridation affect the further demineralization of bleached enamel? An in vitro study. *BMC Oral Health.* 2014;14: 113.
- Khoroushi M, Shirban F, Kaveh S, Doustfateme S. Effect of three nanobiomaterials on microhardness of bleached enamel. *Restor Dent Endod.* 2016;41(3):196-201.

- Kutuk ZB, Ergin E, Cakir FY, Gurgan S. Effects of in-office bleaching agent combined with three different desensitizing agents on enamel. *J Appl Oral Sci.* 2018;27:e20180233.
- Kwon SR, Wertz PW. Review of the mechanism of tooth bleaching. *J Esthet Restor Dent* 2015;27(5):240-257.
- Kwon SR, Cortez E, Wang M, Jagwani M, Oyoyo U, Li Y. Systematic Review of in Vitro Studies Evaluating Tooth Bleaching Efficacy. *Am J Dent.* 2020;33(1):17-24.
- Lago AD, de Freitas PM, Araújo EM, Matos AB, Garone-Netto N. Is It Necessary to Prepare the Enamel before Dental Bleaching? *Int J Dent.* 2017;5063521.
- Leal IC, Costa WKF, Passos VF. Fluoride dentifrice containing calcium silicate and sodium phosphate salts on dental erosion: *in-vitro* study. *Arch Oral Bio.* 2020;118;104857.
- Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent.* 2004;92(4):337-342.
- Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *J Dent.* 2014;42(1):12-20.
- Little MF, Steadman LT. Chemical and physical properties of altered and sound enamel. *Arch Oral Biol.* 1966;11(3):273-278.
- Llena C, Esteve I, Rodrigues-Lozano FJ, Forner L. The application of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate with fluoride (CPP-ACPF) for restoring materials loss after dental bleaching with hydrogen or carbamide peroxide: an in-vitro study. *Ann Anat.* 2019;225:48-53.
- Loguercio AD, Servat F, Stanislawczuk R, Mena-Serrano A, Rezende M, Prieto MV, Cereño V, Rojas MF, Ortega K, Fernandez E, Reis A. Effect of acidity of in-office bleaching gels on tooth sensitivity and whitening: a two-center double-blind randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2017;21(9):2811-2818.



- Loiola AB, Souza-Gabriel AE, Scatolin RS, Corona SA. Impact of hydrogen peroxide activated by lighting-emitting diode/laser system on enamel color and microhardness: An in situ design. *Contemp Clin Dent*. 2016;7(3):312-316.
- 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;70(2):122-126.
- Medvecký L, Stulajterová R, Giretova M, Mincik J, Vojtko M, Balko J, Petrovová E. Effect of tetracalcium phosphate/monetite toothpaste on dentin remineralization and tubule occlusion in vitro. *Dent Mater*. 2018;34(3):442-451.
- Mendonça FL, Jordão MC, Ionta FQ, Buzalaf MA, Honório HM, Wang L, Rios D. In situ effect of enamel salivary exposure time and type of intraoral appliance before an erosive challenge. *Clin Oral Investig*. 2017;21(8):2465-2471.
- Mirzaie M, Yassini E, Ganji S, Moradi Z, Chiniforush N. A comparative study of enamel surface roughness after bleaching with diode laser and nd:yag laser. *J Lasers Med Sci*. 2016;7(3):197-200.
- Mondelli L, Gabriel G, Rizzante P, Magalhães AC, Soares Bombonatti JF, Ishikiriyama SK. Do different bleaching protocols affect the enamel microhardness? *Eur J Dent*. 2015;9(1):25-30.
- Moosavi H, Darvishzadeh F. The Influence of Post-Bleaching Treatments in Stain Absorption and Microhardness. *Open Dent J*. 2016;10:69-78.
- Moritsuka M, Kitasako Y, Burrow MF, Ikeda M, Tagami J, Nomura S. Quantitative assessment for stimulated saliva flow rate and buffering capacity in relation to different ages. *J Dent*. 2006;34(9):716-720.
- Orr C. 'State of the art' in aesthetic dentistry. *Br Dent J*. 2016;221(8):435.

- Parker AS, Patel AN, A Botros R, Snowden ME, McKelvey K, Unwin PR, Ashcroft AT, Carvell M, Joiner A, Peruffo M. Measurement of the efficacy of calcium silicate for the protection and repair of dental enamel. *J Dent*. 2014;42(1):21-29.
- Pepla E, Besharat LK, Palaia G, Tenore G, Migliau G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerate dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma)*. 2014;5(3):108-114.
- Pinelli MD, Catelan A, de Resende LF, Soares LE, Aguiar FH, Liporoni PC. Chemical composition and roughness of enamel and composite after bleaching, acidic beverages and toothbrushing. *J Clin Exp Dent*. 2019;11(12):e1175-e1180.
- Pintado-Palomino K, Tirapelli C. The effect of home-use and in-office bleaching treatments combined with experimental desensitizing agents on enamel and dentin. *Eur J Dent*. 2015; 9(1): 66–73.
- Poggio C, Gulino C, Mirando M, Colombo M, Pietrocola G. Preventive effects of different protective agentes on dentin erosion: An in-vitro investigation. *J Clin Exp Dent*. 2017; 9(1):e7-e12.
- 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;21(11):1059-67.
- Sa Y, Chen D, Liu Y, Wen W, Xu M, Jiang T, Wang Y. Effects of two in-office bleaching agents with different ph values on enamel surface structure and color: an in situ vs. in vitro study. *J Dent*. 2013;38(1):100-110.
- 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;17(6):611-616.

- Sasaki RT, Catelan A, Bertoldo Edos S, Venâncio PC, Groppo FC, Ambrosano GM, Marchi GM, Lima DA, Aguiar FH. Effect of 7.5% hydrogen peroxide containing remineralizing agents on hardness, color change, roughness and micromorphology of human enamel. *Am J Dent.* 2015;28(5):261-267.
- Seong J, Newcombe RG, Matheson JR, Weddell L, Edwards M, West NX. A randomized controlled trial investigating efficacy of a novel toothpaste containing calcium silicate and sodium phosphate in dentin hypersensitivity pain reduction compared to a fluoride control toothpaste. *J Dent.* 2020;98:103320
- Shellis RP, Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;20:13-31.
- Souza-Gabriel AE, Sousa-Neto MD, Scatolin RS, Corona SAM. Durability of resin on bleached dentin treated with antioxidant solutions or lasers. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2020;104:103647.
- Sun Y, Li X, Deng Y, Sun JN, Tao D, Chen H, Hu Q, Liu R, Liu W, Feng X, Wang J, Carvell M, Joiner A. Mode of action studies on the formation of enamel minerals from a novel toothpaste containing calcium silicate and sodium phosphate salts. *J Dent.* 2014;42(1):30-38.
- Turgut, S, Kiliç H, Ulusoy KU, Bagis B. The effect of desensitizing toothpastes and coffee staining on the optical properties of natural teeth and mycrohybrid resin composites: an in-vitro study. *Biomed Res Int.* 2018: 9673562
- Türkmen C, Güteryüz N, Atal PY. Effect of sodium ascorbate and delayed treatment on the shear bond strength of composite resin to enamel following bleaching. *Niger J Clin Pract.* 2016; 19(1):91-98.

- Vieira-Junior WF, Ferraz LN, Pini N, Ambrosano G, Aguiar F, Tabchoury C. Effect of toothpaste use against mineral loss promoted by dental bleaching. *Oper Dent.* 2018;43(2):190-200.
- Wood NJ, Jones SB, Chapman N, Joiner A, Philpotts CJ, West NX. An interproximal model to determine the erosion-protective effect of calcium silicate, sodium phosphate, fluoride formations. *Dent Mater.* 2018;34(2):355-362.
- Yang SY, Choi JW, Kim KM, Kwon JS. Effects of 35% hydrogen peroxide solution containing hydrated calcium silicate on enamel surface. *Clin Oral Investig.* 2021. No prelo. DOI 10.1007/s00784-021-04194-y. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04194-y>. Acesso em: 03 dez. 2021.
- Zanolla J, Marques AB, da Costa DC, de Souza AS, Coutinho M. Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J.* 2017;62(3):276-282.