



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de São José dos Campos  
Instituto de Ciência e Tecnologia

**TATIANE JOSEFA DA SILVA**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE FLÚOR E CÁLCIO NO GEL  
CLAREADOR A BASE DE PERÓXIDO DE  
HIDROGÊNIO NA PENETRAÇÃO, COR E  
MICRODUREZA**

2015

**TATIANE JOSEFA DA SILVA**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE FLÚOR E CÁLCIO NO GEL  
CLAREADOR A BASE DE PERÓXIDO DE  
HIDROGÊNIO NA PENETRAÇÃO, COR E  
MICRODUREZA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte das exigências para a obtenção do grau de CIRURGIÃO-DENTISTA.

Orientador: Prof. Adj. Carlos Rocha Gomes Torres

São José dos Campos  
2015

## **AUTORIZAÇÃO**

Autorizamos a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 05 de outubro de 2015.

Tatiane Josefa da Silva

E-mails: [tatiane.silva@ict.unesp.br](mailto:tatiane.silva@ict.unesp.br)

**BANCAEXAMINADORA**

**Profº Dr. Carlos Rocha Gomes Torres**

Odontologia Restauradora

**Profª Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele**

Odontologia Restauradora

**Profº Dr. Cláudio Antonio Talge Carvalho**

Odontologia Restauradora

São José dos Campos, 05 de outubro de 2015.

## DEDICATÓRIA

*Dedico o presente trabalho ao meu orientador Prof<sup>o</sup> Dr. Carlos Rocha Gomes Torres, sem o qual não seria possível a concretização do mesmo, à Prof.<sup>a</sup> Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele, pelo seu auxílio e contribuição, ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Cláudio Antonio Talge Carvalho, por sempre estar disposto a ajudar em diversas ocasiões. E, especialmente, à minha família, a qual é a razão de tudo!*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço a Deus, pela oportunidade a qual me tem concedido de cursar a Odontologia com esmero, me conduzindo com Sua força até ao fim!*

**“Não multipliqueis palavras de altíssimas altivezas, nem saiam coisas árduas da vossa boca; porque o SENHOR é o Deus da sabedoria, e por Ele são as obras pesadas na balança.”**

**(1Samuel 2:3)**

**Efeito da adição de flúor e cálcio no gel clareador a base de peróxido de hidrogênio na penetração, cor e microdureza\***

*Effects of adding fluoride and calcium in the bleaching gel of hydrogen peroxide based on penetration, color and microhardness*

**RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição dos íons cálcio e flúor na formulação de um gel clareador de peróxido de hidrogênio a 35% na sua penetração através da estrutura dental, eficácia clareadora e microdureza superficial do esmalte dental. Foram utilizados 80 dentes incisivos bovinos, dos quais foram obtidos discos de esmalte e dentina da face vestibular, com 6 mm de diâmetro e 2mm de espessura (1mm de esmalte e 1mm de dentina). As amostras foram divididas de forma estratificada em quatro grupos, de acordo com as substâncias protetoras/remineralizantes adicionadas ao gel de peróxido de hidrogênio a 35%: Grupo Ca – Gluconato de Cálcio a 0,5%; Grupo F – Fluoreto de Sódio a 0,2%; Grupo Ca+F– Gluconato de Cálcio a 0,5% e Fluoreto de Sódio a 0,2%; Grupo controle – nenhuma substância foi adicionada. A cor inicial das amostras e a microdureza do esmalte foram mensuradas antes dos procedimentos clareadores. Os espécimes de cada grupo foram colocados em um suporte metálico no qual havia uma câmara pulpar simulada, a qual foi preenchida com tampão de acetato para coletar e estabilizar o peróxido penetrado. Os respectivos géis clareadores foram aplicados por 3 vezes, totalizando

---

\*Artigo elaborado de acordo com as normas do Periódico Brazilian Dental Science (ISSN 2178-6011).

amostras foi determinada por espectrofotometria de absorvância. A microdureza das amostras foi mensurada imediatamente após o clareamento. A seguir, as amostras foram imersas em saliva artificial por 7 dias, após os quais a cor final foi avaliada. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, adotando-se um nível de significância de 5%.

### **PALAVRAS-CHAVE**

Clareamento dental; Peróxido de hidrogênio; Gluconato de cálcio; Flúor; Esmalte dentário, microdureza; Cor.

### **ABSTRACT**

*The objective of this study was to evaluate the effect of adding calcium ions and fluoride in the formulation of a whitening gel 35% hydrogen peroxide in its penetration through the dental structure, whitening efficacy and surface hardness of dental enamel. 80 teeth bovine incisors were used, which were obtained enamel and dentin disks of the buccal surface with 6mm diameter and 2mm thick (1 mm of enamel and dentin 1mm). The samples were divided into four groups stratified according to the protective substance / remineralizing added to the gel of hydrogen peroxide 35%: Group Ca - Calcium gluconate 0.5%; Group F - Sodium fluoride 0.2%; Group Ca + F - Calcium gluconate 0.5% and Sodium Fluoride 0.2%; Control group - no substance was added. The initial color of the samples and the hardness of the enamel were measured before the bleaching procedures. The specimens from each group were placed on a metallic support on which there was a simulated pulp chamber, which*

*was filled with acetate buffer to collect and stabilize the penetrated peroxide. The respective bleaching treatments were applied 3 times, total of 30 minutes of application. The amount of peroxide which passed through the samples was determined by absorbance spectrophotometry. The hardness of the samples was measured immediately after bleaching. Next, the samples were immersed in artificial saliva for 7 days, after which the final color was evaluated. Data were statistically analyzed adopting a 5% significance level.*

### **KEYWORDS**

*Tooth bleaching; Hydrogen Peroxide; Calcium gluconate; Fluorine; Dental enamel, microhardness; Color.*

## **INTRODUÇÃO**

O clareamento dental é um tratamento estético altamente requisitado, uma vez que é conservador e pode conduzir a resultados satisfatórios para a mudança da cor de dentes vitais e desvitalizados [1]. Normalmente, os géis utilizados para o clareamento são baseados no peróxido de hidrogênio como agente ativo, que está disponível em diversas concentrações, geralmente variando de 6,5% a 38% [2,3]. O peróxido de hidrogênio pode se difundir através do esmalte e da dentina e liberar radicais livres em um processo redox [4], causando a oxidação das moléculas cromogênicas e sua quebra em partículas menos complexas, proporcionando um aspecto brilhante ao dente [2,5].

Embora os géis clareadores sejam geralmente seguros para o uso clínico, alguns efeitos colaterais foram relatados, como a sensibilidade dentária [6] e as alterações morfológicas e químicas na estrutura do esmalte [7,8]. Além disso, a redução da microdureza do esmalte após o clareamento tem sido relatada por vários autores, mas os dados publicados são controversos e esse efeito permanece incerto [2,9-15].

Como tentativa de reduzir esses efeitos adversos potenciais, os estudos têm sido conduzidos com a adição de íons em géis clareadores [9, 10,16-21]. A adição de fluoreto e cálcio, por exemplo, poderia aumentar a saturação de gel clareador e minimizar a perda de minerais e assim restaurar a resistência do esmalte aos ácidos, ao superar estes efeitos indesejáveis [9]. Além disso, os íons fluoreto e cálcio têm sido utilizados em algumas formulações, como ingredientes ativos de agentes dessensibilizantes para manejar a sensibilidade dental [10]. Entretanto, tem sido especulado que a presença destes íons poderia alterar a penetração do peróxido de hidrogênio através da estrutura do esmalte e da dentina, reduzindo o efeito clareador [8].

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de cálcio e/ou flúor no gel de peróxido de hidrogênio a 35% em relação a sua penetração através da estrutura dental, no potencial clareador e na microdureza superficial do esmalte. A hipótese nula testada foi que a adição de cálcio e/ou flúor no gel clareador peróxido de hidrogênio a 35% não altera a microdureza do esmalte, a eficácia clareadora e a difusão do peróxido através do esmalte e dentina.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Delineamento Experimental**

#### **Unidades experimentais:**

- 80 dentes incisivos bovinos

#### **Fatores em estudo:**

- Adição de agentes remineralizantes/protetores em 4 níveis: cálcio, cálcio + flúor, flúor, nenhum.

#### **Variável de resposta:**

- Penetração;
- Microdureza;
- Cor.

#### **Preparo dos espécimes**

Oitenta dentes incisivos bovinos foram obtidos de animais recém-abatidos, com idade entre 2 a 4 anos [11]. Foram escolhidos dentes sem evidência de desgastes na borda incisal, que poderiam apresentar esclerose tubular [12]. Após a extração, os dentes foram limpos com lâminas de bisturi e armazenados em solução salina contendo 0,1% de timol a 4°C [11]. Os dentes foram usados dentro de 2 semanas. Amostras cilíndricas com 6 mm de diâmetro foram obtidas a partir da face vestibular de cada dente.

Foram realizados cortes perpendiculares ao longo eixo dos dentes, ao nível da junção amelo-cementária, utilizando um disco diamantado em torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, SP), separando a coroa da raiz. Para obtenção de amostras circulares de dimensões padronizadas foi utilizada a “Máquina para Corte de Amostras Circulares”, desenvolvida pelo orientador do presente estudo e construída com os recursos provenientes de um auxílio à pesquisa financiado pela FAPESP (2010/50912-8) (Figura 1A).

Os dentes foram estabilizados na morsa de fixação (Figura 1B), a qual foi posicionada dentro do recipiente de coleta de fluídos (Figura 1C). O recipiente de coleta é conectado a uma articulação esférica que permite o alinhamento da superfície plana, no centro da face vestibular, perpendicularmente ao longo eixo da ponta diamantada tipo trefina, com 6 mm de diâmetro interno e margens recobertas com diamante aglutinado (Figura 1D e 1E). A ponta diamantada foi colocada em movimento e deslocada no sentido vertical, sob abundante irrigação (Figura 1F). Após o término do corte, fragmentos com diâmetro exato de 6 mm foram removidos do remanescente dental como se observa na Figura 1G e 1H.

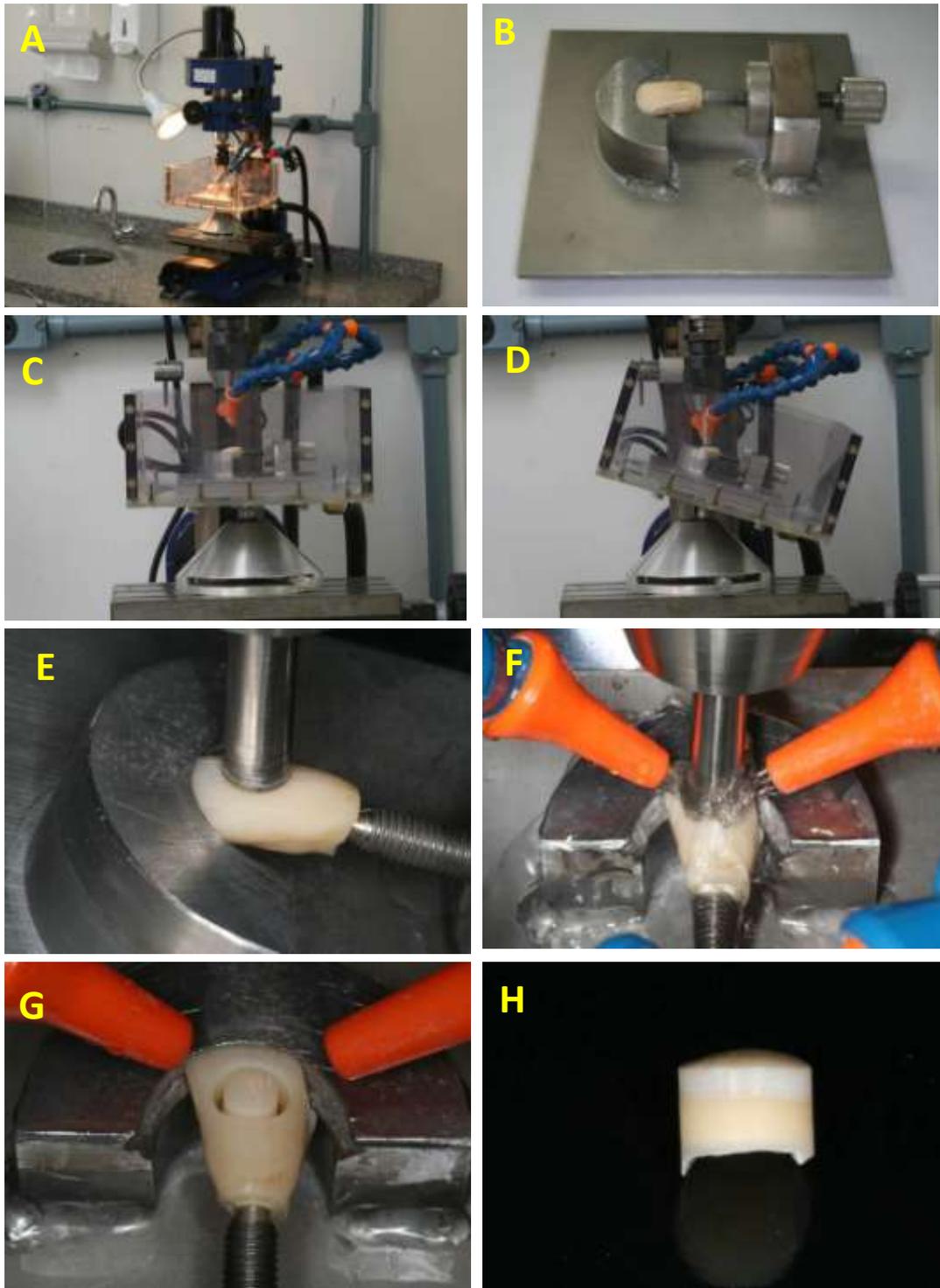


Figura 1 – A) Máquina para corte de amostras circulares (UNESP – São José dos Campos); B) Fixação do dente na morsa, C e D) Alinhamento da câmara de coleta de água para que a superfície vestibular do incisivo fique perpendicular ao longo eixo da trefina; E) e F) Corte do espécime circular; G e H) Espécime cortado.

A espessura da dentina foi padronizada posicionando-se o espécime num dispositivo metálico para desgaste que possui uma perfuração de tamanho ligeiramente maior que o espécime, e um parafuso que permite o ajuste da profundidade do orifício, o qual foi ajustado em 2,1 mm (Figura 2A), utilizando-se um paquímetro. Esta medida foi adotada para que a superfície do esmalte pudesse ser posteriormente polida e os espécimes apresentarem então espessuras de 1 mm de esmalte e 1mm de dentina.

Os espécimes foram posicionados neste dispositivo de tal forma que o esmalte ficasse voltado para baixo. Sendo assim, toda a dentina remanescente estava para fora do orifício e foi desgastada em uma lixa d'água de granulação P1200 (Fepa-P, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), acoplada a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, BR) (Figura 2B). Feito este desgaste, o dispositivo foi ajustado em 2 mm e então os espécimes foram posicionados com a dentina voltada para a parte interna, deixando para fora o esmalte, o qual foi polido com lixa d'água de granulação P2500 e P4000 (Fepa-P, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), aplicadas por 20s (Figura 2C), restando assim espécimes de esmalte e dentina com 1mm de espessura de cada tecido (Figura 2D).

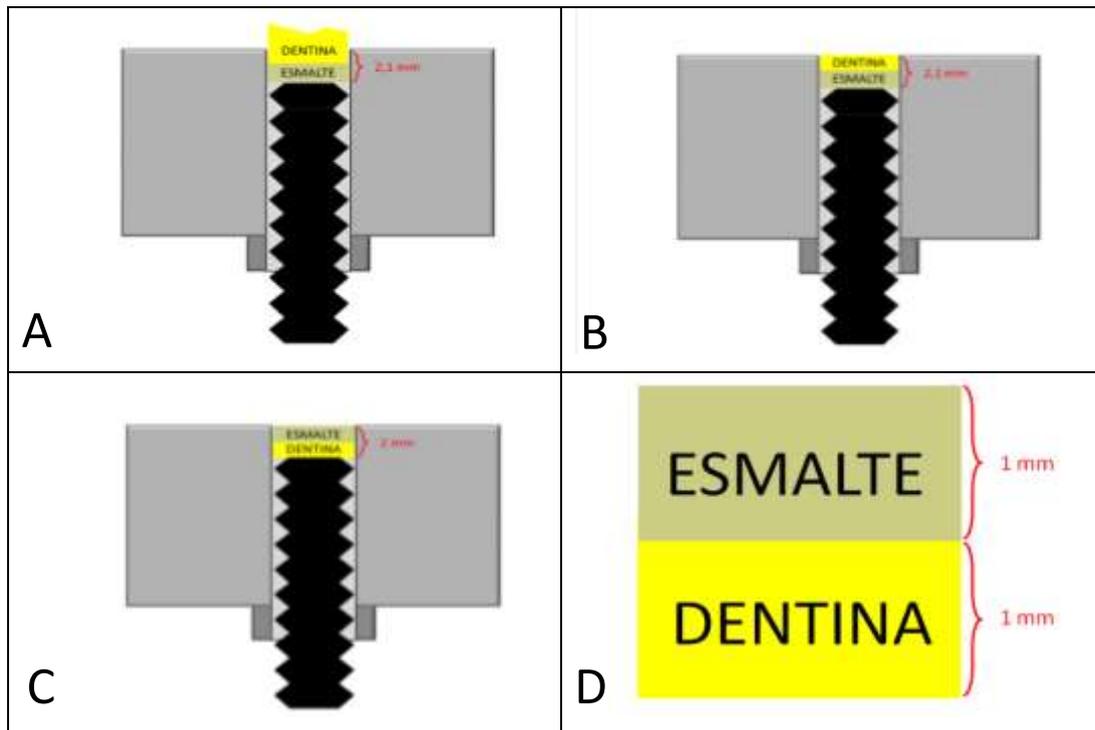


Figura 2 – Esquema do desgaste e polimento das superfícies de esmalte e dentina. A) Disco de esmalte e dentina logo após o corte pela trefina, posicionado no dispositivo de desgaste. B) Após a planificação da dentina; C) Após o polimento do esmalte; D) Dimensões do disco de esmalte-dentina após polimento.

### Divisão dos grupos

Os 80 discos de esmalte e dentina confeccionados foram distribuídos entre quatro grupos (n=20) de forma estratificada, de acordo com os valores de microdureza iniciais, sendo que em todos os grupos foi utilizado um gel clareador a base de peróxido de hidrogênio a 35% manipulado em nosso laboratório, resultando assim nos seguintes grupos experimentais:

- Grupo Ca – Foi adicionado ao gel clareador 0,5% em peso de gluconato de cálcio;

- Grupo F – Foi adicionado ao gel clareador 0,2% em peso de fluoreto de sódio;
- Grupo Ca+F – Foi adicionado ao gel clareador 0,5% em peso de gluconato de cálcio e 0,2% em peso de fluoreto de sódio;
- Grupo CONTROLE – Não foi adicionado qualquer aditivo ao gel clareador.

A concentração de peróxido de hidrogênio utilizada foi escolhida, por ser a mais frequentemente utilizada em produtos comerciais para a técnica de clareamento de consultório. O gel experimental foi composto de duas partes. A primeira foi uma solução de peróxido de hidrogênio a 50% contendo um agente espessante acrílico, em que o meio ácido é uma solução branca (solução A - pH 1,5). A segunda parte consistiu numa solução aquosa contendo uma substância alcalina (solução B – pH 11,3), em que 0,2% de fluoreto de sódio (Labsynth, Diadema, SP, Brasil) e/ou 0,5% de gluconato de cálcio (Gluconal, Purac, Campo de Goytacazes, RJ, Brasil) foram adicionados, de acordo com a divisão dos grupos. Para a obtenção do gel clareador final (pH 6,5), três partes da solução A e uma parte da solução B em volume foram misturadas. Para obter a garantia da concentração correta de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na solução pura a 50% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em peso (Sigma–Aldrich, Buchs, Suíça) usada para preparar o gel, foi utilizado o método de titulação com solução de 0,1N de permanganato de potássio. O padrão primário de oxalato de sódio foi utilizado para padronizar a solução de KMnO<sub>4</sub> [13].

## **Mensuração da cor inicial**

Após a obtenção dos espécimes foram realizados os procedimentos para avaliação da cor inicial de cada um deles. Para tal foi utilizado um aparelho espectrofotômetro CM-2600d (Konica Minolta, Osaka, Japão) (Figura 3A). O dispositivo foi ajustado para usar a fonte de iluminação padrão D65, com inclusão do ultravioleta em 100%, ângulo do observador em 2° e o componente especular incluído (SCI). Antes da leitura o aparelho foi calibrado com os padrões branco e preto fornecidos pelo fabricante. A cor e a distribuição espectral foram analisadas de acordo com o Sistema CIE Lab, através do software Spectramagic NX (Konica Minolta, Osaka, Japão).

Para permitir a reprodutibilidade do posicionamento dos espécimes em relação à janela de leitura do espectrofotômetro, um suporte articulado para o aparelho foi desenvolvido para permitir que ele fosse afastado e aproximado da amostra de forma padronizada. Sob a área de leitura onde a amostra foi analisada foi posicionado um disco de porcelana recortado de uma pastilha de cor branca padrão, geralmente utilizada para calibração em procedimentos de leitura de cor (CERAM, Stoke-on-Trent, Staffordshire, UK). Ela funcionou como um fundo branco padronizado, sobre o qual a amostra foi posicionada, conforme sugerido por Lee et al.[14]. As coordenadas de cor do fundo branco utilizado são  $L^*=84.95$ ;  $a^*=-0.38$ ;  $b^*=2.93$ . Sobre esse foi colocado um suporte em material flexível, confeccionado com um lençol de borracha de cor branca (Abcol, Contagem, MG, Brasil) com 2mm de espessura, com um orifício

central que permite o posicionamento exato do espécime, de forma que a superfície do esmalte fique paralela à superfície do material flexível e a base toque o fundo padronizado (Figura 3B). Isso permitiu que todo o espécime fosse lido pelo aparelho evitando o fenômeno de “*edgloss*”, que ocorre quando uma máscara com orifício menor que a amostra é usada para ler materiais túrbidos, como a estrutura dental, conforme descrito por Bolt et al. [15].

Para promover o contato óptico entre o dente e o fundo branco padronizado foi usado o polietilenoglicol 400 (LabSynth, São Paulo, SP, Brasil) que tem índice de refração de 1,47, próximo ao tecido dental [16-7]. Uma gota desse líquido foi aplicada no orifício da borracha, sobre o fundo branco, antes do posicionamento da amostra (Figura 3C).

Os espécimes foram removidos da solução de timol a 0,1%, sendo o excesso de umidade eliminado com papel absorvente e imediatamente levados ao orifício do dispositivo de posicionamento (Figura 3D e 3E). O excesso do contato óptico extravasado foi removido rapidamente da superfície com um papel absorvente. A janela de leitura do espectrofotômetro foi imediatamente colocada em contato com o posicionador e as leituras então realizadas (Figura 3F). Os espécimes foram removidos do aparelho e guardados em tubos Eppendorf numerados contendo 2 ml de solução de timol a 0,1%. O aparelho foi programado para fazer 3 leituras consecutivas, calculando automaticamente os valores médios das coordenadas cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  a partir dos registros de refletância.

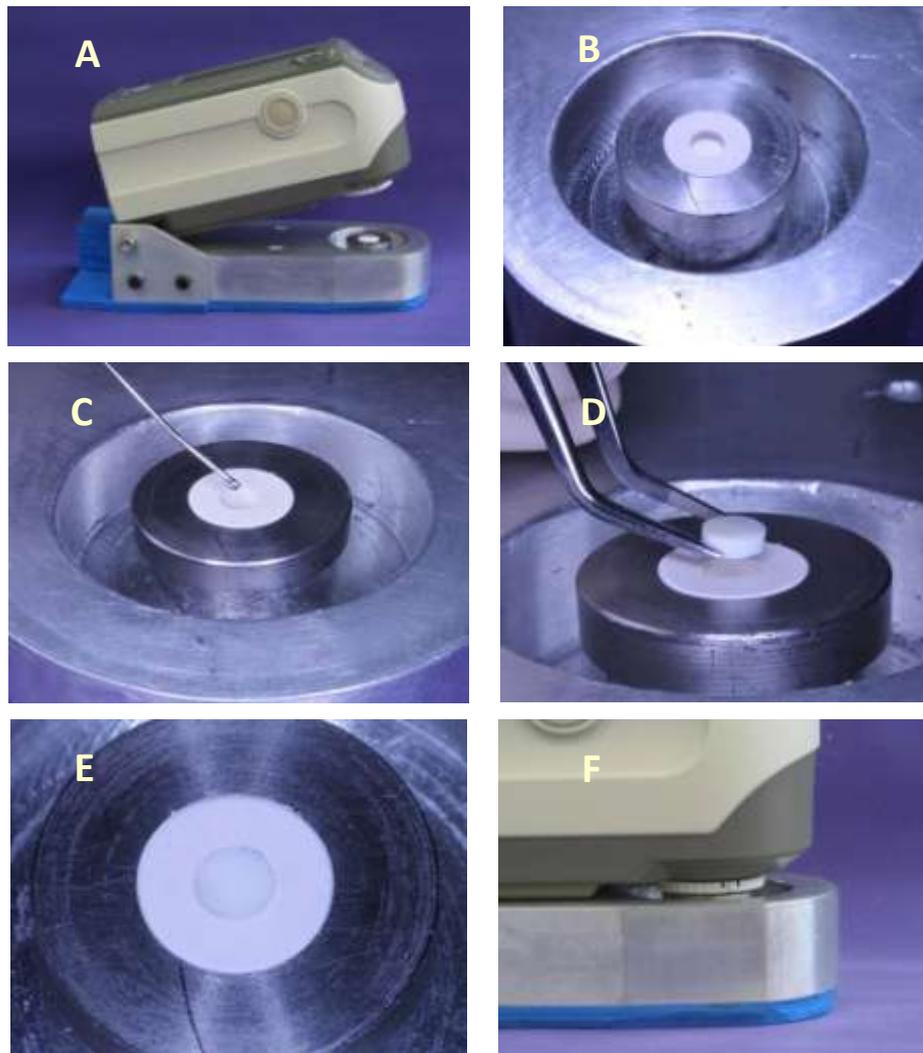


Figura 3 – Sequência realizada para mensuração da cor inicial das amostras. A) Espectrofotômetro montado em suporte articulado; B) Orifício do posicionador em silicone exibindo o fundo branco padronizado; C) Aplicação do contato óptico dentro do orifício; D) Posicionamento da amostra; E) Amostra em posição; F) Espectrofotômetro em contato com a amostra para execução da leitura.

### **Mensuração da microdureza do esmalte**

A microdureza Knoop da superfície do esmalte de todas as amostras foi avaliada antes e imediatamente após o clareamento. Para tal foi utilizado um microdurômetro (FM-700, Future-Tech, Tóquio, Japão) equipado com uma ponta Knoop,

aplicando-se uma carga de 50g por 10s. Três mensurações foram realizadas na superfície de cada espécime com uma distância média de 100 $\mu$ m entre eles, obtendo-se uma média. De acordo com análises prévias realizadas em nosso laboratório, a realização das indentações necessárias para a mensuração da microdureza não interferem nas medidas da cor e penetração do peróxido, por serem de dimensões extremamente reduzidas e superficiais, não prejudicando assim as análises complementares.

### **Tratamento clareador e captura do peróxido**

Para que fosse possível o processo de clareamento e ao mesmo tempo identificar a quantidade de penetração do peróxido através do disco de esmalte e dentina, os espécimes de cada grupo foram fixados num suporte metálico, no qual havia uma cavidade interna com capacidade de 20 $\mu$ L para simular a câmara pulpar (Figura 4A). Antes do posicionamento do espécime, 15 $\mu$ L de tampão de acetato a 2M (pH=4,5) foi colocado nessa cavidade interna para simular o fluido pulpar e coletar o peróxido de hidrogênio que penetrou através do espécime (Figura 4B e 4C). O tampão de acetato foi escolhido por sua capacidade de estabilizar qualquer peróxido que tenha atravessado a estrutura dental até o momento de sua mensuração.

As amostras foram posicionadas nas cavidades com o lado da dentina em contato com a solução e as margens foram vedadas com um anel de borracha tipo *o'ring* e uma tampa metálica com uma abertura na superfície (Figura 4D – 4F). A eficácia da vedação das

margens foi testada em um estudo piloto onde as amostras utilizadas foram feitas com resina composta sem a utilização da estrutura dentária. A penetração do peróxido de hidrogênio não foi detectada no interior das câmaras. Assim, os espécimes tiveram toda sua periferia isolada, mas a porção central com esmalte ficou livre para receber o gel clareador acrescido dos componentes referidos de acordo com cada grupo (Figura 4F).

Após a fixação nos casulos, os espécimes estavam prontos para receber o gel clareador, o qual foi aplicado sobre a superfície de esmalte em uma camada uniforme de cerca de 2mm (Figura 4G). Após cinco minutos, o gel de cada espécime foi agitado com o auxílio de um aplicador tipo Micro-Brush (Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), com o propósito de dissipar bolhas presentes para que não interferissem na atuação dos reagentes. Ao transcorrer dez minutos, o gel foi aspirado através de uma cânula de aspiração endodôntica, e novamente aplicado. O processo de aplicação do gel foi repetido por três vezes, totalizando 30 minutos de aplicação, simulando o protocolo mais comum utilizado pela maioria dos produtos comerciais.

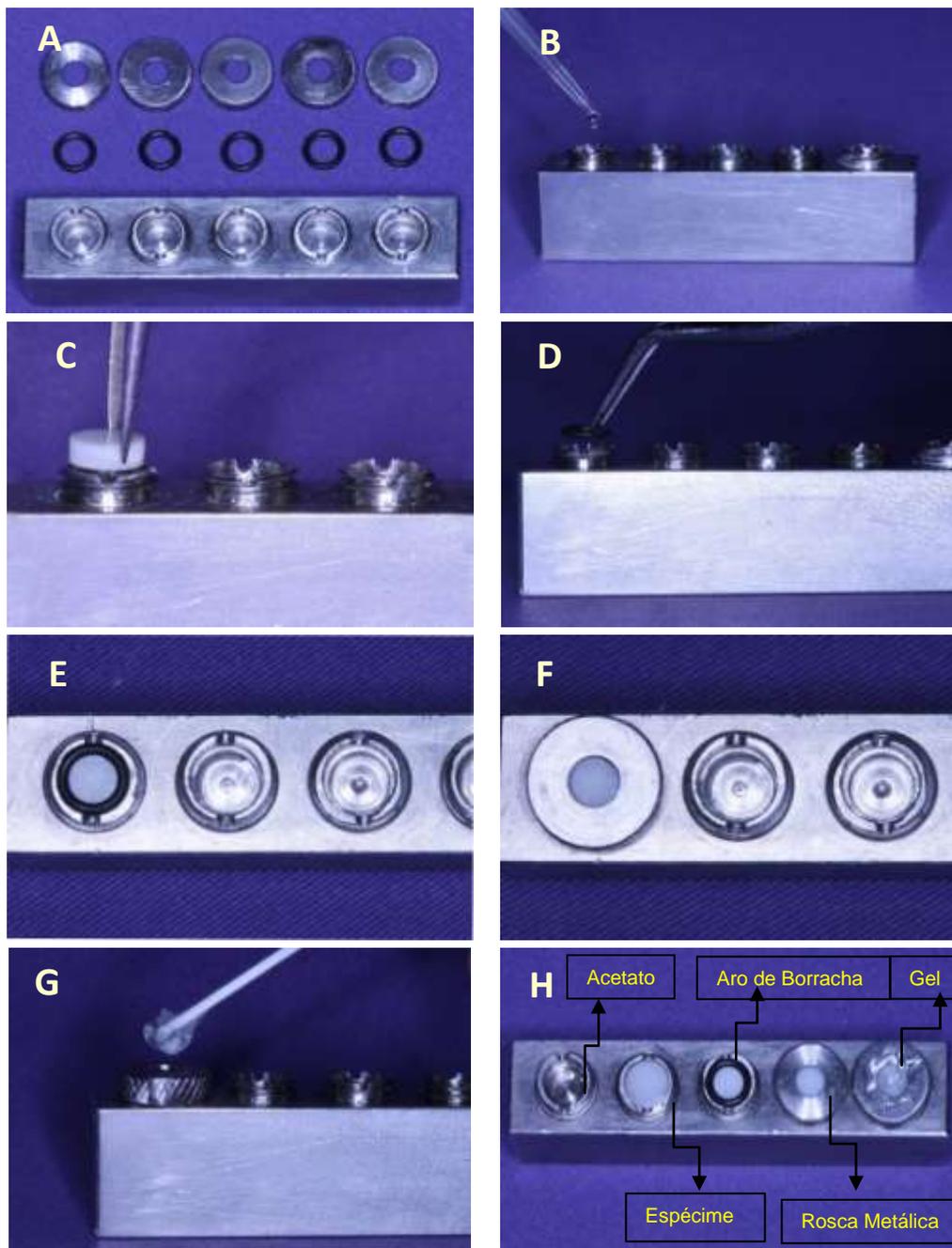


Figura 4 – Fixação das amostras para realização do tratamento clareador e mensuração da penetração do peróxido de hidrogênio. A) Dispositivo metálico para fixação dos espécimes; B) Tampão de acetato simulando o fluido pulpar sendo colocado; C) Posicionamento do espécime; D) Posicionamento do anel de borracha; E) Anel de borracha posicionado; F) Tampa metálica perfurada em posição; G) Aplicação do gel clareador na porção central do esmalte; H) Diferentes etapas do posicionamento das amostras.

## **Mensuração do peróxido de hidrogênio**

Após o primeiro procedimento clareador de 30 minutos, o gel clareador foi removido com jato de água/ar e a superfície seca com bolinhas de algodão. Sobre a superfície das amostras foi aplicada 20µl de saliva artificial, segundo a formulação proposta por Gohring et. al.[18], permanecendo por 2h em um recipiente fechado com atmosfera umedecida. Esse tempo de espera foi selecionado, pois em um estudo prévio [19], foi observado que, nesse modelo experimental, o peróxido a 35% demora em média 1h e 30 minutos para atingir a câmara pulpar simulada em uma quantidade mensurável. Após este período, os espécimes foram removidos dos casulos e armazenados em 2 ml de saliva artificial no interior de tubos Eppendorf. Depois disso, 5 µL de tampão de acetato foi coletado das câmaras pulpares simuladas com uma micropipeta automática (Figura 5A) e transferidos para uma cubeta de acrílico com capacidade de 1000 µL (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha) (Figura 5D). O método proposto por Bauminger [20] e, modificado por Hannig et. al. [21-3], foi aplicado para medir a concentração de peróxido de hidrogênio na solução. Este método consiste em uma análise espectrofotométrica baseada na reação de 4-aminoantipirina e fenol com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, catalisada pela peroxidase. O peróxido inorgânico é oxidado pela peroxidase liberando oxigênio, o qual oxida os cromogênicos aromáticos doadores de hidrogênio, mudando a cor da solução de transparente para rosa. A quantidade de peróxido de hidrogênio na solução foi medida analisando a absorbância em um espectrofotômetro, empregando um comprimento de onda de 510 nm (Figura 5B) [21-3].

Foram utilizados como reagente enzimático a aminofenazona (4-aminoantipirina; 4 mmol/L), fenol (24 mmol/L) e peroxidase (0,4 U/mL), dissolvido em tampão fosfato 0,1 M com pH 7,0. Os reagentes foram armazenados a 4°C. Uma curva de calibração foi preparada com uma solução padrão de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de concentração conhecida para fazer a relação entre a absorbância e a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em cada amostra (Figura 5C). Dentro dos recipientes acrílicos, 1000 µL de reagente enzimático foi adicionado e misturado (Figura 5E). Após 3 minutos, a densidade óptica da solução rosa resultante foi mensurada e a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em mg/l foi calculada (Figura 5F).

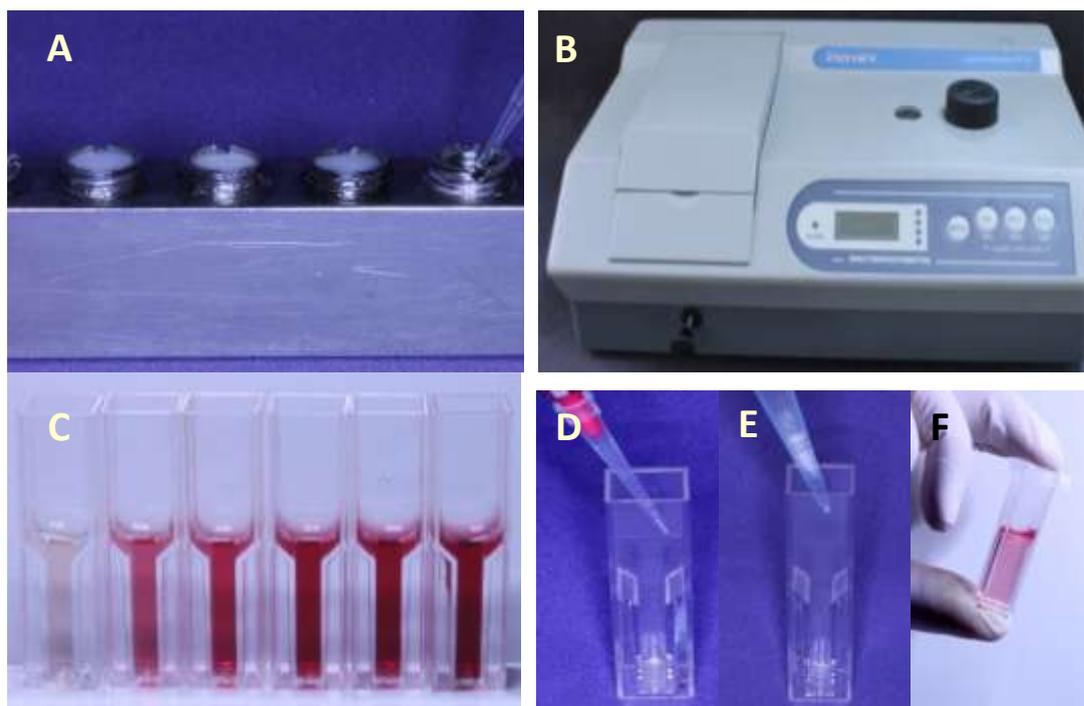


Figura 5 – A) Coletando o tampão de acetato; B) Espectrofotômetro utilizado para analisar a absorbância de luz; C) Curva de calibração padrão das cores; D) Transferindo o tampão de acetato para cubeta; E) Adicionando o reagente enzimático na cubeta; F) Mudança da cor da solução de transparente para rosa.

## **Mensurações pós-clareamento**

Imediatamente após o clareamento, a microdureza das amostras foi novamente avaliada, sendo os espécimes então armazenados em saliva artificial por 7 dias, a fim de promover a reidratação e a estabilização da cor. Após esse período, a cor das amostras foi novamente avaliada.

Para comparar a cor dos dentes antes e após o tratamento, em referência aos valores iniciais, as variações nos valores de L\*, a\* e b\* ( $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ ), assim como a variação da percepção de cor ( $\Delta E$ ) foram calculadas. Para determinação de  $\Delta E$  foi usada a seguinte fórmula:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

Os valores de mudança da microdureza para cada amostra também foi calculada, usando a seguinte fórmula:

$$\text{Variação da microdureza} = \text{Microdureza inicial} - \text{Microdureza final}$$

## **Planejamento estatístico**

As seguintes hipóteses de nulidade testadas são:

- $H_0$  a- A adição de cálcio e/ou flúor no gel clareador a base de peróxido de hidrogênio a 35% não reduzem a quantidade de penetração através de estrutura dental;

- $H_{0b}$  - A adição de cálcio e/ou flúor no gel clareador peróxido de hidrogênio a 35% não interferem na variação da microdureza do esmalte após o tratamento clareador;
- $H_{0c}$  - A adição de cálcio e/ou flúor no gel clareador peróxido de hidrogênio a 35% não interferem na eficácia clareadora.

A normalidade dos dados foi avaliada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo os testes de inferência mais adequados selecionados e aplicados. Para todas as análises foi adotado um nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

### Penetração

Os dados de penetração foram analisados empregando o teste de ANOVA a 1 fator, como pode ser observado na Tabela 1. Não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos, embora a média de penetração para o grupo onde foi adicionado flúor seja numericamente menor do que no grupo controle, como pode ser observadas na Figura 1.

Tabela 1 – Resultados da ANOVA para a penetração do peróxido

	SS	GL	MS	F	p
Grupos	1,76745	3	0,58915	1,8903	0,137059
Erro	27,42712	88	0,31167		

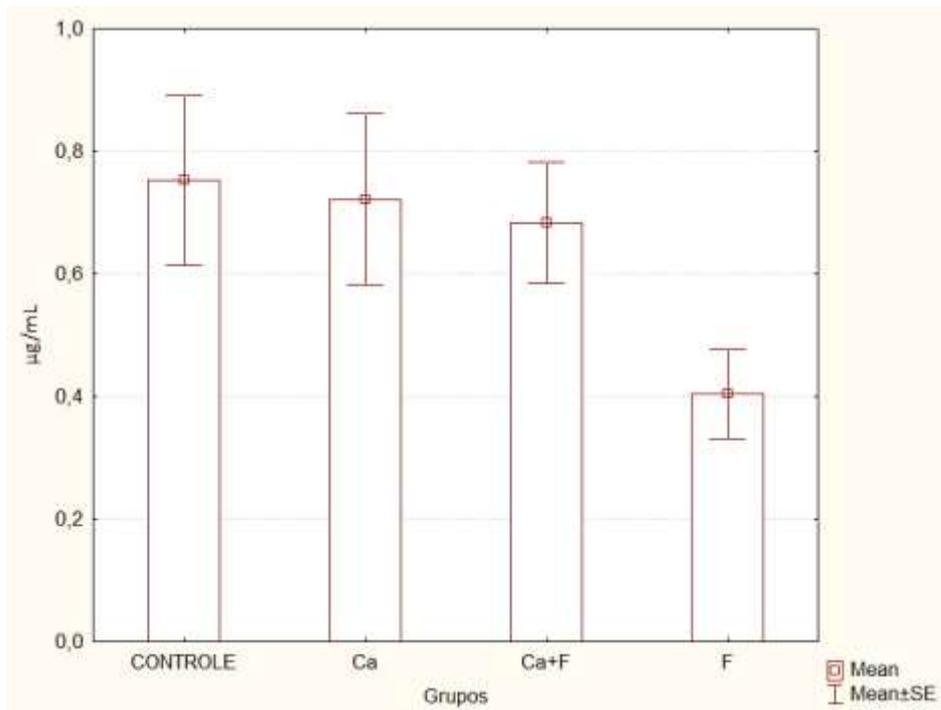


Figura 6 – Médias de penetração do peróxido de hidrogênio através da estrutura dental.

### Microdureza

Os dados de microdureza foram analisados pelo teste de ANOVA a 1 fator, tanto na comparação entre os grupos em cada momento do experimento (Controle x Ca x Ca+F x F), quanto na comparação entre os momentos em cada grupo (inicial x após o clareamento x após 4 meses), sendo os resultados apresentados na Tabela 2. Os percentuais de queda da microdureza em relação aos valores iniciais foram calculados e também são apresentados na mesma tabela.

Tabela 2 – Resultados dos testes de ANOVA/Tukey e o percentual de modificação da dureza das amostras nos diferentes momentos de avaliação

Grupos	INICIAL	CLAREAMENTO		4 MESES		ANOVA*
	Mean ( $\pm$ SD) *	Mean ( $\pm$ SD) *	%	Mean ( $\pm$ SD) *	%	
Controle	311,50 ( $\pm$ 27,44) A,a	185,84 ( $\pm$ 47,24) A,b	-40,09	245,58 ( $\pm$ 54,05) A,c	-20,39	p=0,00* (f=46,16)
Ca	311,02 ( $\pm$ 27,43) A,a	190,40 ( $\pm$ 38,26) A,b	-39,04	256,86 ( $\pm$ 35,70) AB,c	-16,89	p=0,00* (f=72,14)
Ca+F	310,44 ( $\pm$ 27,38) A,a	225,85 ( $\pm$ 33,71) B,b	-27,10	280,87 ( $\pm$ 42,58) B,c	-8,84	p=0,00* (f=34,36)
F	309,34 ( $\pm$ 27,85) A,a	239,16 ( $\pm$ 38,99) B,b	-22,33	288,19 ( $\pm$ 25,62) B,a	-6,30	p=0,00* (f=30,29)
ANOVA#	p=0,994 (f=0,03)	p=0,000* (f=9,99)		p=0,001* (f=5,51)		

\*Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferenças entre os grupos para cada momento de avaliação. Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre as leituras para cada grupo. # Resultados da ANOVA para a comparação entre os grupos em cada avaliação (gl=3). \*Resultados da ANOVA para a comparação entre as leituras para cada grupo (gl=2). \*Diferenças significativas.

Pode-se observar que na avaliação inicial, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Contudo, após o tratamento clareador e após quatro meses de imersão, diferenças significativas foram constatadas. Após o clareamento, os grupos que receberam a aplicação dos géis clareadores contendo flúor somente, e a associação de cálcio e flúor apresentaram médias de dureza significativamente maiores que o grupo controle. Os percentuais de queda da microdureza em relação aos valores iniciais, para os grupos que receberam clareamento com os géis nos quais o fluoreto de sódio foi adicionado foram cerca de metade do valor constatado no grupo controle.

Após quatro meses de imersão em saliva, ocorreu um aumento significativo nos valores de dureza, embora uma diferença significativa dos grupos que receberam flúor ou a associação de flúor

e cálcio ainda pôde ser observada em relação ao grupo controle. O grupo que recebeu a aplicação do gel contendo apenas flúor evidenciou médias estatisticamente similares aos valores iniciais de dureza.

Na Figura 2 são apresentadas as médias de microdureza para os diferentes grupos, antes e depois da realização do clareamento e após a imersão em saliva.

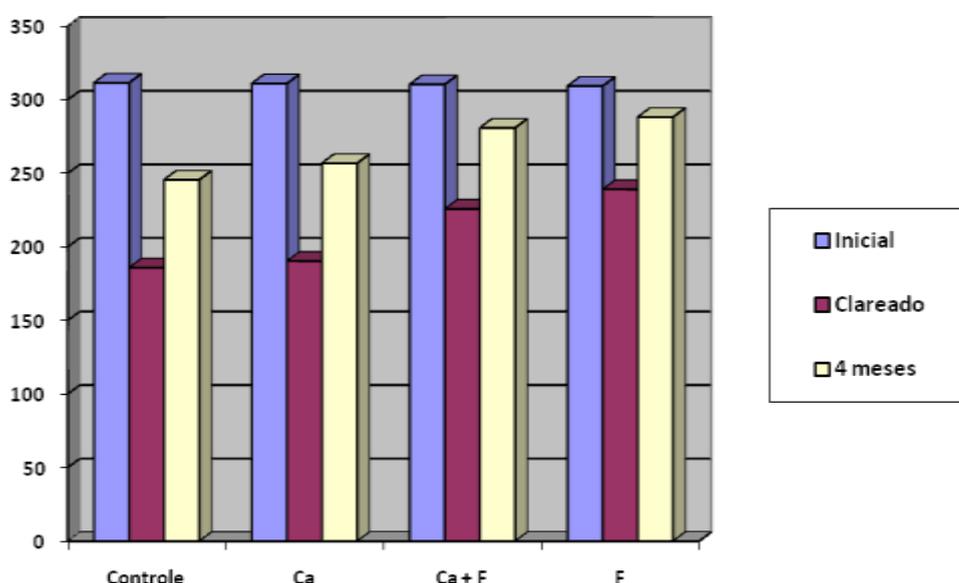


Figura 7 – Médias de microdureza Knoop para os diferentes grupos, antes e após o tratamento clareador e após a imersão em saliva artificial por 4 meses.

## Cor

Os resultados da variação de cor das amostras após o clareamento com os diferentes géis clareadores podem ser analisados na Tabela 3, para os parâmetros  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$  e  $\Delta E$ . Constata-se que não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, para todos os parâmetros analisados.

Tabela 3 – Resultados da ANOVA a 1 fator para os dados da cor após o clareamento

Parâmetro	SS	GL	MS	F	P
$\Delta L$	1,834	3	0,611	1,093	0,3573
$\Delta a$	0,843	3	0,281	2,549	0,0619
$\Delta b$	0,529	3	0,176	0,303	0,8231
$\Delta E$	0,91	3	0,303	0,657	0,5813

Os valores de média e desvio padrão para todos os parâmetros podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de média e desvio-padrão para os parâmetros  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$  e  $\Delta E$

GRUPOS	$\Delta L$		$\Delta a$		$\Delta b$		$\Delta E$	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
CT	1,14	0,74	0,67	0,38	-3,91	0,83	4,22	0,70
CA	1,39	0,70	0,47	0,38	-3,97	0,69	4,30	0,71
CAF	1,39	0,83	0,56	0,27	-3,91	0,82	4,30	0,65
F	1,05	0,72	0,74	0,29	-3,75	0,70	4,04	0,67

## DISCUSSÃO

Novas formulações de géis clareadores com a adição de cálcio e flúor têm sido procuradas para minimizar os efeitos colaterais, tais como a sensibilidade dental e a redução da microdureza do esmalte promovida pelo peróxido de hidrogênio, particularmente quando utilizado em concentrações elevadas. A hipótese de nulidade testada foi negada para a microdureza e aceita para a cor e difusão do peróxido, com a adição de flúor, associados ou não com o cálcio, no gel clareador peróxido de hidrogênio a 35% promovendo menor

diminuição da microdureza, mas não alterando a eficácia clareadora e a difusão do peróxido através do esmalte/dentina.

Os efeitos dos géis altamente concentrados sobre a microdureza do esmalte ainda permanecem incertos na literatura. Enquanto alguns estudos mostram que o uso de géis clareadores altamente concentrados promove a desmineralização do esmalte, mensurada através da diminuição da microdureza, atribuída aos géis com pH menor que 5.2 [24-6], outros mostram que o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio não causa alterações na superfície do esmalte [2,14]. De fato, a literatura apresenta muitos estudos *in vitro* a respeito dos efeitos deletérios do clareamento sobre o esmalte. A microdureza é um teste adequado, comum e bem aceito para avaliação de pequenas alterações na superfície do esmalte, especialmente nos experimentos envolvendo a desmineralização e a remineralização [27]. Desde grandes alterações ocorridas na superfície do esmalte exposto ao meio bucal, até na avaliação de mudanças nas diferentes regiões dos espécimes, o teste de microdureza mostra-se relevante e tenta mimetizar a situação real. Assim, os ensaios de microdureza são uma opção viável para estimativa das alterações minerais [28].

No presente estudo verificou-se uma diminuição significativa da microdureza para todos os grupos, e a adição de 0,5% de gluconato de cálcio no gel HP a 35% não foi capaz de evitar a desmineralização do esmalte. No entanto, quando foi adicionado o fluoreto de sódio (Ca + F e grupos F), houve uma redução na queda da microdureza em torno de 40% quando comparado com o controle.

Após quatro meses de imersão em saliva artificial, os grupos contendo fluoreto de sódio também mostraram uma melhor recuperação da microdureza, com o grupo F quase alcançando a condição inicial dos valores de microdureza do esmalte.

O bom desempenho dos grupos contendo flúor pode ser atribuído à sua capacidade em aumentar o crescimento cristalino e retardar a dissolução de minerais do esmalte [29], contribuindo para o reparo dos defeitos micro estruturais do esmalte através da adsorção e precipitação de cálcio e fosfato presente na saliva [30]. Estudos anteriores relataram que a adição de cálcio e fluoreto no gel clareador aumenta sua saturação e permite a incorporação destes íons na estrutura do esmalte, conseqüentemente, aumentando sua resistência à desmineralização [16, 20].

A análise da cor é um procedimento muito subjetivo, e o olho humano não é sensível o suficiente para detectar pequenas variações de cor. A utilização de um espectrofotômetro permite uma melhor acurácia e a possibilidade de controlar variáveis, tais como os tons de fundo, permitindo a reprodutibilidade dos dados; embora não demonstre, necessariamente, relevâncias clínicas na mudança de cor [2]. Estima-se que a diminuição do valor de  $b^*$  (mudança de amarelo para azul) e o aumento no valor de  $L^*$  resultam na melhor percepção do efeito branqueador promovido pelos procedimentos de clareamento, e aumenta a satisfação pessoal [16]. Além disso, o limite de alteração da cor aceitável tem sido indicado como  $\Delta E = 3.7$ , então os valores de  $\Delta E > 3.7$  podem indicar o bom desempenho do procedimento clareador. Neste estudo todos os géis apresentaram

comportamento semelhante em relação  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta L$  e  $\Delta E$ , incluindo valores superiores a 4.0 para este último parâmetro. Assim, a adição de flúor e/ou de cálcio no gel HP a 35% não foi capaz de alterar a sua eficácia, e também permitiu a sua penetração através do esmalte, resultando em um bom efeito clareador. Portanto, os resultados para a cor do presente estudo, a partir da análise de  $\Delta E$ ,  $\Delta L$ ,  $\Delta a$  e  $\Delta b$ , corrobora com estudos prévios [8,9,31], em que semelhante adição de cálcio e/ou flúor no agente clareador não afetou a eficácia clareadora. Finalmente, uma vez que o peróxido de hidrogênio que penetra nos prismas de esmalte pode estar ativo por vários dias até ser totalmente neutralizado, a mensuração da cor foi realizada após este período para permitir a reidratação do esmalte e a estabilização da cor [2].

A penetração de peróxido de hidrogênio através do esmalte e dentina é a principal responsável pelo efeito clareador, mas especula-se que a presença de íons, tais como o cálcio e o flúor, podem causar a deposição de cristais sobre a superfície do esmalte e reduzir a permeabilidade dos géis clareadores, reduzindo então o efeito clareador [8]. Os resultados deste estudo mostram que a adição de cálcio e/ou flúor não foi capaz de promover diferenças significativas na penetração do gel clareador quando comparado ao grupo controle, embora o grupo F tenha apresentado uma taxa de difusão cerca de 50% mais baixa do que o grupo controle. Isso pode explicar a ausência de diferenças na análise de cor.

Finalmente, a utilização de dentes bovinos é bem aceita pela comunidade científica, desde suas propriedades químicas e físicas, bem como sua composição, densidade, resistência à tração e

dureza são muito semelhantes ao esmalte humano [8,32]. No entanto, os resultados deste estudo devem ser cuidadosamente analisados e não extrapolados para situações clínicas, devido a algumas limitações, como a ausência de pressão pulpar, o elevado número de poros que o substrato bovino apresenta comparado ao humano, e a ausência de saliva humana no protocolo de remineralização. Futuros estudos são necessários para melhor elucidar a atuação e interação entre os íons cálcio e flúor associado ao gel HP a 35% em sua penetração através da estrutura dentária.

## **CONCLUSÃO**

A adição de cálcio e flúor no gel clareador peróxido de hidrogênio a 35% não reduziu sua penetração através da estrutura dental e promoveu menor redução da microdureza após a aplicação do gel sem interferir na eficácia do clareamento. Além disso, o armazenamento das amostras em saliva artificial após o clareamento levou ao aumento da microdureza superficial do esmalte, entretanto, não foi capaz de restaurar os valores de base, exceto para o grupo em que o flúor foi adicionado ao gel clareador.

## **REFERÊNCIAS**

1. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. J Dent. 2005 Jan;33(1):33-40.

2. Borges AB, Zanatta RF, Barros AC, Silva LC, Pucci CR, Torres CR. Effect of hydrogen peroxide concentration on enamel color and microhardness. *Oper Dent*. 2015 Jan-Feb;40(1):96-101. doi: 10.2341/13-371-L
3. Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser: a systematic review. *Dent Mater*. 2007 May;23(5):586-96.
4. Borges AB, Torres CR, de Souza PA, Caneppele TM. Bleaching gels containing calcium and fluoride: effect on enamel erosion susceptibility. *Int J Dent*. 2012;2012:347848. doi: 10.1155/2012/347848
5. Bernardon JK, Sartori N, Ballarin A, Perdigao J, Lopes GC, Baratieri LN. Clinical performance of vital bleaching techniques. *Oper Dent*. 2010 Jan-Feb;35(1):3-10. doi: 10.2341/09-008CR
6. Wang Y, Gao J, Jiang T, Liang S, Zhou Y, Matis BA. Evaluation of the efficacy of potassium nitrate and sodium fluoride as desensitizing agents during tooth bleaching treatment: a systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2015 Aug; 43(8):913-23. doi: 10.1016/j.jdent.2015.03.015
7. Jiang T, Ma X, Wang Y, Tang H, Shen X, Hu Y et al. Investigation of the effects of 30% hydrogen peroxide on human tooth enamel by Raman scattering and laser-induced fluorescence. *J Biomed Opt*. 2008 Jan-Feb;13(1):014019. doi: 10.1117/1.2870114.
8. 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. doi: 10.1016/j.jdent.2008.05.003

9. Alexandrino L, Gomes Y, Alves E, Casti H, Rogez H, Silva C. Effects of a bleaching agent with calcium on bovine enamel. *Eur J Dent* 2014 Jul;8(3):320-5. doi: 10.4103/1305-7456.137634.
10. 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.
11. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod*. 2001 Jan;27(1):23-30.
12. Tagami J, Tao L, Pashley DH, Horner JA. The permeability of dentine from bovine incisors in vitro. *Arch Oral Biol*. 1989;34(10):773-7.
13. Hardman PK, Moore DL, Petteway GH. Stability of hydrogen peroxide as a bleaching agent. *Gen Dent*. 1985 Mar-Apr;33(2):121-2.
14. Lee YK, Lu H, Powers JM. Changes in opalescence and fluorescence properties of resin composites after accelerated aging. *Dent Mater*. 2006 Jul;22(7):653-60.
15. Bolt RA, Bosch JJ, Coops JC. Influence of window size in small-window colour measurement, particularly of teeth. *Phys Med Biol* 1994 Jul;39(7):1133-42.
16. Ragain JC, Jr., Johnston WM. Accuracy of Kubelka-Munk reflectance theory applied to human dentin and enamel. *J Dent Res*. 2001 Feb;80(2):449-52.
17. Caneppele TM, Borges AB, Torres CR. Effects of dental bleaching on the color, translucency and fluorescence properties of enamel and dentin. *Eur J Esthet Dent*. 2013 Summer;8(2):200-12.

18. Gohring TN, Zehnder M, Sener B, Schmidlin PR. In vitro microleakage of adhesive-sealed dentin with lactic acid and saliva exposure: a radio-isotope analysis. *J Dent*. 2004 Mar;32(3):235-40.
19. Torres CR, Souza CS, Borges AB, Huhtala MF, Caneppele TM. Influence of concentration and activation on hydrogen peroxide diffusion through dental tissues in vitro. *Sci World J*. 2013 Sep;2013:193241. doi: 10.1155/2013/193241. eCollection 2013.
20. Bauminger BB. Micro method for manual analysis of true glucose in plasma without deproteinization. *J Clin Pathol*. 1974 Dec;27(12):1015-7.
21. Hannig C, Zech R, Henze E, Dreier S, Attin T. Peroxide release into saliva from five different home bleaching systems in vivo. *Am J Dent* 2005 Feb;18(1):13-8.
22. Hannig C, Zech R, Henze E, Dorr-Tolui R, Attin T. Determination of peroxides in saliva--kinetics of peroxide release into saliva during home-bleaching with Whitestrips and Vivastyle. *Arch Oral Biol*. 2003 Aug;48(8):559-66.
23. Hannig C, Willenbacher S, Becker K, Mahony C, Attin T. Recovery of peroxides in saliva during home bleaching: influence of smoking. *J Oral Rehabil*. 2006 Jul;33(7):533-41.
24. Magalhaes JG, Marimoto AR, Torres CR, Pagani C, Teixeira SC, Barcelos 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. doi: 10.3109/00016357.2011.600704.
25. Sa Y, Sun L, Wang Z, Ma X, liang S, Xing W et.al. Effects of two in-office bleaching agents with different pH on the structure of

human enamel: an in situ and in vitro study. *Oper Dent.* 2013;38(1):100-10.

26. Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T et al. Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent.* 2011 Aug;39(10):686-92. doi: 10.1016/j.jdent.2011.07.011.

27. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006 Aug;34(7):412-9.

28. Borges AB, Guimaraes CA, Bresciani E, Ramos CJ, Borges AL, Rocha Gomes Torres C. Effect of incorporation of remineralizing agents into bleaching gels on the microhardness of bovine enamel in situ. *J Contemp Dent Pract.* 2014 Mar;15(2):195-201.

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

30. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Soares LE, 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. doi: 10.1089/pho.2010.2797.

31. Borges AB, Dantas RL, Caneppele TM, Borges AL, Rocha Gomes Torres C. Effect of remineralizing agents on the bleaching efficacy of gels. *Gen Dent.* 2013 Nov-Dec;61(7):67-71.

32. Attin T, Albrecht K, Becker K, Hannig C, Wiegand A. Influence of carbamide peroxide on enamel fluoride uptake. J Dent. 2006 Nov-Dec;34(9):668-7.