



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA

**INFLUÊNCIA DO MODELO EXPERIMENTAL
E DO SUBSTRATO NAS ALTERAÇÕES DO
ESMALTE CLAREADO**

Úrsula Aparecida Escalero Silva

ARAÇATUBA - SP

2017

Úrsula Aparecida Escalero Silva

INFLUÊNCIA DO MODELO EXPERIMENTAL E DO SUBSTRATO NAS ALTERAÇÕES DO ESMALTE CLAREADO

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Dentística.

Orientador: Prof. Adj. André Luiz Fraga Briso

ARAÇATUBA – SP

2017

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586i

Silva, Úrsula Aparecida Escalero.

Influência do modelo experimental e do substrato nas alterações do esmalte clareado / Úrsula Aparecida Escalero

Silva. - Araçatuba, 2017

80 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientador: Prof. André Luiz Fraga Briso

1. Clareamento dental 2. Peróxido de hidrogênio 3. Esmalte dentário 4. Projetos de pesquisa 5. Técnicas in vitro I. Título

Black D2
CDD 617.6

Dedicatória

Dedicalória

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”

(Isaac Newton)

A Deus,

Meu SENHOR, que nunca me falta ou abandona, em tudo me guia e fortalece. Dedico a vós o meu mestrado, pois, tu és o meu maior Mestre, meu amparo, os braços que me carregam quando as pernas parecem faltar. Acredito e confio em ti Senhor e agradeço por minha vida, família e oportunidades.

*Aos meus amados pais e irmã, Newton, Zélia e
Pâmela,*

A família mais amada e abençoada do mundo! Ter o título de Mestre não é nada fácil, mas vocês tornaram as dificuldades, medos e inseguranças mais leves para mim. Obrigada por este ser um sonho que não vivo sozinha. Este momento não aconteceria sem vocês, na verdade, sem vocês eu não existiria. Não tenho palavras para agradecer tanto cuidado, carinho, dedicação, amor e tudo o que vocês representam para mim. Obrigada por tudo, vocês são meu porto seguro. Amo vocês!!!

Aos meus avós maternos, Pedrina e Aparecido,

Coração acelera, fica apertado e as vezes parece querer sair pela garganta... meu Deus que falta vocês fazem! Infelizmente vocês não estão mais

Dedicalória

entre nós, mas vivem em meu coração. Dedico a vocês meu mestrado! Faço dessa uma oportunidade para agradecer por todo carinho, companhia, incentivo, amor e sempre desejarem o melhor para mim... eu simplesmente amoo vocês, saibam que são e sempre serão parte de mim, saudades!!!

Aos meus avós paternos, Eunice e Ermelindo,

Saibam que são muito importantes em minha vida, obrigada pelo carinho. Dedico meu mestrado a vocês e gostaria principalmente de agradecer por terem dado a vida e criado meu pai, uma das pessoas mais maravilhosas que existe, ser humano incrível, trabalhador, homem de caráter, humilde, integro, respeitador e digno de respeito de sua família. Nós somos a herança deixada por vocês. Amo muito vocês!

Ao meu orientador Prof. André Luiz Fraga Briso

Sem seus conselhos e ensinamentos este trabalho não seria possível. Professor dedicado, pesquisador exemplar, um verdadeiro exemplo pra mim. Dedico meu mestrado e a sequência de minha carreira acadêmica a você. Obrigada por me orientar! Sou muito grata por tudo que o senhor fez e faz por mim professor.

A minha tia do coração Tana Toquetão,

Tia Tana, a senhora foi a inspiração para que eu me tornasse Cirurgiã Dentista. As vezes, paro para pensar e vejo que Deus a colocou no meu caminho como um sinal para que eu não tivesse dúvidas sobre a profissão que

Dedicatória

gostaria de seguir quando crescesse, por isso e muito mais, te dedico também o meu mestrado. Meus pais ao saber que eu queria ser “como você: dentista” permitiram que eu sonhasse, me deram apoio independente de ser coisa de criança ou não e isso fez com que eu chegasse até aqui. Agradeço a Deus por tê-la colocado em minha vida e na vida de minha família. Obrigada por tudo, te amo! Beijos!!!

*Agradecimentos
Especiais*

Agradecimentos Especiais

A Deus,

Meu amado Deus, agradeço por todas as experiências vividas nesses dois anos de pós-graduação e por todas as pessoas que colocou em meu caminho. Pois, muitas delas me inspiram, me ajudam, me desafiam e me encorajam a ser cada dia melhor. Obrigada por essa jornada, por nunca me abandonar e por essa profissão maravilhosa que escolheu para mim, te amo!!!

Aos grandes amores da minha vida, vovó Pedrina, pai, mãe e tata,

Vocês são sem sombra de dúvida a melhor parte de mim, são as pessoas mais importantes da minha vida, minha FAMÍLIA! Não tenho dúvidas do amor de Deus por mim, ao me permitir ser: neta, filha e irmã das pessoas mais generosas e amorosas do mundo, verdadeiros exemplos de vida para mim! Agradeço por todas as abdições, esforços sem medida, carinho, conselhos e muito mais que fizeram e ainda fazem por mim. Sou muito grata pelo apoio, incentivo e especialmente por acreditarem em minha capacidade, por tornarem tudo mais fácil pelo simples fato de existirem e serem assim como são... Os melhores no mundo pra mim, amo vocês!!!

*Ao meu orientador, Professor André Luiz Fraga
Briso*

Gostaria de agradecê-lo pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e poder fazer parte dessa equipe tão competente e dedicada. Obrigada por ter

Agradecimentos Especiais

me acolhido como “brisete” e se mostrar disponível e atencioso quando precisei, desde o desenvolver do meu projeto, orientações de escrita, e execução deste trabalho. Trabalhar com o senhor contribui para que eu me tornasse mais determinada e fortalecesse ainda mais o meu caráter, fez com que eu tivesse a certeza de que: quando queremos algo não podemos medir esforços, muito menos nos dar por vencidos perante as dificuldades, obstáculos ou intolerância humana. Meus pais sempre me disseram que o conhecimento é a única coisa que levamos por toda a vida. Agradeço imensamente por compartilhar de seu conhecimento comigo, por ser um exemplo de competência e dedicação ao trabalho e por permitir que isso tudo acontecesse. Sou muito honrada por tê-lo como orientador!

*Ao Professor Alberto Carlos Botazzo Delbem e
toda a equipe da Pediatria,*

Agradeço de modo muito especial ao Professor Alberto Delbem, por ter atenciosamente me recebido no departamento e laboratório de Pediatria, permitindo a execução de boa parte dessa pesquisa. Sou muito grata ao senhor e as meninas de sua equipe, em especial a Marcelle Danelon e Mayra Frasson. Agradeço pela paciência e compreensão que tiveram diante de minhas limitações, pelas orientações e horários no durômetro concedidos tão gentilmente. Obrigada por contribuírem para que este momento acontecesse.

Ao Professor Paulo Henrique dos Santos,

Um agradecimento especial ao Professor Paulinho, que sempre se mostrou disponível e atencioso quando precisei, contribuindo de forma

Agradecimentos Especiais

positiva para meu crescimento e formação acadêmica. Obrigada pela forma atenciosa com a qual sempre me recebeu no Departamento de Materiais Dentários, permitindo e contribuindo para que eu realizasse uma importante parcela desse trabalho, obrigada por colaborar para que este momento se concretizasse!

*A todos os colegas e amigos do Departamento de
Cirurgia,*

Amigos pós graduandos,

Agradeço a todos vocês: Leonardo Freita, Pedro Henrique, Gustavo Momesso (Dourado) pela ajuda que me prestaram contribuindo para a realização desse trabalho, sempre solícitos e gentis. Muito obrigada meninos, contem comigo para o que precisarem!

Professor Leonardo Faverani,

Léo, não sei como lhe agradecer por tudo que fez por mim... obrigada por ser um professor sempre disponível, gentil e cordial. Em pouco tempo se demonstrou um professor extraordinário, amigo muito especial e um ser humano singular. Você é uma pessoa impar que Deus colocou em meu caminho durante meu mestrado, obrigada por sua empatia e por estar sempre disposto a me ajudar... muito obrigada professor, saiba que pode sempre contar comigo!

Agradecimentos Especiais

"À família Dentística,"

Professores,

Agradeço à todos os meus eternos professores: André Briso, Silvio Mauro, Renato Sundfeld, Sandra Rahal, Ricardo C. Okida e Ticiane Fagundes pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados, por contribuírem sempre de forma positiva para o meu crescimento e aprimoramento pessoal e profissional.

Ao Professor Renato,

Agradeço ao senhor pelos ensinamentos, desde a graduação até o presente momento, pela gentileza e atenção que sempre teve para comigo. É um privilégio partilhar de sua companhia e presenciar a sua generosidade ao partilhar de seus conhecimentos conosco, alunos da pós graduação. Saiba que tenho muito carinho e uma admiração enorme pelo senhor. O tenho como exemplo do tipo de profissional e professor que gostaria de ser. Obrigada!!

A Professora Sandra Rahal,

Mais que uma professora, você se tornou minha "teacher linda". Só tenho a agradecer pelo vasto conhecimento dividido e por ser o exemplo de ser humano e profissional apaixonante que quero me tornar, com certeza você é uma de minhas maiores inspirações. Obrigada por ser minha amiga, ouvinte, conselheira, por torcer por mim e principalmente por estar do meu lado sempre que precisei. Você já sabe, mas vou dizer novamente... sou muito grata

Agradecimentos Especiais

por Deus ter colocado um ser humano tão iluminado quanto você em minha vida, te amo teacher linda!

Ao Professor Ricardo Okida,

Obrigada professor Ricardinho, pelos ensinamentos e atenção, por estar sempre disponível e incentivar o crescimento de todos a sua volta, inclusive o meu. Obrigada pelo companheirismo, e principalmente por ser sempre atencioso e generoso ao compartilhar de seus conhecimentos conosco, alunos de pós-graduação. Com sua integridade e entrega a essa profissão tão maravilhosa que é a Odontologia o senhor cativa a todos nós. Saiba que respeito, admiro e tenho muito carinho pelo senhor. Obrigada!

A Professora Ticiane,

Agradeço por você sempre estar disposta a compartilhar de seus conhecimentos, dar conselhos e dividir experiências. Por ser um exemplo de determinação, integridade e dedicação profissional. Tenho muito carinho e admiração por você professora, saiba que pode contar sempre comigo, beijos!!!

Ao Professor Silvio Mauro,

Obrigada professor Silvio, pelos ensinamentos, dicas e atenção dada a nós pós-graduandos. Obrigada professor, por estar sempre disposto a ajudar e contribuir para a evolução e crescimento da nossa “família dentística”.

Agradecimentos Especiais

Aos colegas e amigos de pós-graduação,

Ana Teresa Maluly, Ana Carolina, Arthur Bruno, Bruna de Oliveira, Camila Berbel, Fábio Salomão, Fernanda Pereira, Henrico Badaoui, Laura Molinar, Livia Valentim, Lucas Silveira, Thaís Suzuki, Vanessa Marques, Vanessa Rahal.

Ana, em pouco tempo de convivência fui cativada por sua alegria e dinamismo! Além disso, acho que você vai concordar comigo “chará”, todas as pessoas nascidas em 10/10 são pessoas incríveis, com dom de esbanjar simpatia onde passam...rsr ... Vanessa e Lucas saibam que foram nossos pós docs. exemplares... Bruna, Cah e Henrico vocês são meus amigos de turma que continuam meus parceiros até hoje... sem falar na Carol, nossa maquiadora profissional... e a Livia “pau pra toda obra”, com quem pude contar em momentos decisivos... vocês já são minhas parceiras meninas, e vão ter que me aguentar muuuito! Fernanda e Vanessa Marques, agradeço tudo que fizeram por mim, e saibam que podem sempre contar comigo. Brincadeiras a parte, vou ser mais direta... quero agradecer a todos vocês pelo companheirismo, ajuda, inúmeros momentos de risadas e trocas de experiências... Obrigada por tudo colegas e amigos... Que vocês tenham muito sucesso, beijos!

Janaína Cardoso,

Jana, lembra quando te disse que ao te conhecer tive a sensação que já te conhecia! Achamos estranho néh...rsrs ... Nos tornamos amigas de pronto, você com esse seu bom humor contagiante conseguindo ser engraçada até quando está irritada... compartilhamos risadas, choros, alegrias... só tenho a agradecer amiga, pela permanência no departamento até tarde da noite só para me ajudar, por me ouvir e dividir comigo tantos momentos! Saiba que

Agradecimentos Especiais

estamos juntas apesar da distância, estou a um whats app de distância, pode contar comigo sempre migui! Sucesso a você, beijos!

Marjorie Gallinari,

Marjô, o que dizer à você “brisete Mor”... um exemplo de pesquisadora para nós! Obrigada pelo companheirismo, parceria, dicas, risos e momentos compartilhados. Saiba que todo o carinho e sentimentos são recíprocos... Ainda teremos muitos anos de convivência, se Deus quiser!! Conte comigo sempre. Obrigada por tudo Marjozitcha, muito sucesso! Beijos!

Mariana Moda,

Mari, nossa amizade só foi aumentando com o passar do tempo, veja como as coisas mudaram... assim que nos conhecemos você era quieta, quase não conversávamos, agora em compensação tenho que pedir “deixa eu falar?”...rsrs Segundo João Bidu (astrólogo) “todo sagitariano é uma pessoa extrovertida, bem-humorada e sincera, mas poucos têm o privilégio de conhecê-la de verdade.”... “Gosta de reunir a família e os amigos para encontros descontraídos, pois estar perto de quem ama é muito importante para você.” Pior que essa tal astrologia tem razão...rs ... Agora entendo a sua loucura de sempre dizer: “Bora sair gente, tomar uma!”... rsrs... mas esses convites acabam ficando só na conversa, as outras brisetes podem confirmar o que digo. Brincadeiras a parte amiga, te agradeço por me incentivar, ouvir e estar sempre disposta a me ajudar compartilhando de momentos importantes para mim. Saiba que te admiro e torço muito por sua felicidade e sucesso. Obrigada pela parceria! Beijos!

Agradecimentos Especiais

Sandra Borgui,

Sandrine, obrigada por esses dois anos de companheirismo, pelos incentivos, por sempre ter uma palavra amiga, um conselho sensato, esse humor único do qual compartilho e por estar sempre que possível ao meu lado. Às vezes, paro para pensar em todas as situações que compartilhamos e no final tenho sempre um sorriso no rosto, sabe por quê? Por que a concretização de um sonho é sempre bom. Somente tenho a agradecer por todos os acontecimentos que contribuíram para o nosso crescimento e de nossa amizade. Saiba que estamos juntas, seja em momentos difíceis ou de felicidade. Desejo tudo de bom pra você lindona!! Obrigada amiga... muito sucesso... Beijos!

Morganna Souza,

Morgs, nos conhecemos ainda na graduação, você sempre comunicativa, interessada em aprender e fazer o melhor em clínica. Identifiquei-me de cara com seu amor e dedicação por nossa profissão magnífica... na pós estreitamos ainda mais nossa amizade e se ficamos algum tempo sem nos ver confesso, sinto falta de sua “retórica”...rsrs. Te agradeço pelos inúmeros momentos hilários vividos, pela sua amizade, parceria e apoio. Você é uma amiga muito especial, obrigada por tudo! Te desejo tudo de melhor do mundo, que Deus te abençoe!! “Tamo junto!”... saiba que pode sempre contar comigo. Beijos!!

Agradecimentos Especiais

Laura e Fábio,

Laura e Fábio, obrigada pelo companheirismo e por sempre estarem dispostos a ajudar, seja com uma dica, informação ou compartilhamento de conhecimentos sobre fotografia ou algum material novo disposto no mercado odontológico. Sucesso a vocês!

Eternamente Agradecida...

Aos *voluntários* que participaram da pesquisa, vocês foram fundamentais para concretização deste trabalho. Obrigada pela solidariedade, paciência e dedicação!

Agradeço a todos os meus amigos, em especial, aos meus companheiros da *56ª Turma de Cirurgiões-Dentistas* da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-Unesp. A melhor!! Muito obrigada!

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Unesp, na pessoa do seu Ilustríssimo Diretor Professor Tit. Wilson Roberto Poi, pela oportunidade de ingressar no curso de pós-graduação, pela excelente infraestrutura oferecida, obrigada por esta oportunidade.

Aos funcionários da seção de pós-graduação *Valéria Zagato, Lílian Mada e Cristiane Lui*, sempre muito educadas, nos ajudam, orientam e socorrem na hora do desespero. Muito obrigado pelo carinho. Parabéns pela eficiência e dedicação de sempre.

Agradecimentos Especiais

Ao *Departamento de Odontologia Restauradora*, representada pelo Chefe de Departamento Professor Sílvio José Mauro, ao qual estendo meus agradecimentos a todos os professores e funcionários, em especial Elaine, Nelci, Peterson e Andreza que contribuem de forma essencial com o curso de pós-graduação.

Aos funcionários da biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Unesp, pela educação e atenção que sempre me deram desde os tempos da graduação. Deus abençoe vocês.

Aos professores da Pós-graduação, especialmente ao Professor *Wilson Roberto Poí*, pela atenção e dedicação nas aulas, por se dedicar em nos formar excelentes professores. Obrigado Professor!

Ao Professor Humberto Gennari, obrigada professor, por me incentivar, por ter sempre uma palavra amiga, por se preocupar com meu bem estar e por fazer parte de minha trajetória apesar de nos encontrarmos pouco ultimamente. Saiba professor que o respeito e admiro muito, por tudo que é... professor inspirador, amigo zeloso, ser humano incrível. Obrigada por tudo!

Aos professores da banca de qualificação, representada pelas *Profa. Adj. Denise Pedrini Ostini* e *Profa.Dra. Marcelle Danelon*. Muito obrigada por terem aceitado meu convite e contribuído sobremaneira para o meu crescimento.

Aos professores da banca examinadora, representada pela *Profa. Ass. Dra. Ticiane Cestari Fagundes* e *Prof. Adj. Carlos Eduardo*

Agradecimentos Especiais

Franccí, por terem aceitado meu convite em participar deste momento tão especial e importante. Será uma honra tê-los em minha defesa da dissertação. Muito obrigada!

“A amizade desenvolve a felicidade e reduz o sofrimento, duplicando a nossa alegria e dividindo a nossa dor.”

(Joseph Addison)

Epigrafe

*“O conhecimento torna a alma jovem e diminui a
amargura da velhice. Colhe, pois, a sabedoria.
Armazena suavidade para o amanhã.”*

(Vinci, Leonardo da)

Resumo

SILVA UAE, **Influência do modelo experimental e do substrato nas alterações do esmalte clareado** [Dissertação]. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; Araçatuba, 2017.

RESUMO

Objetivo: O presente estudo teve como objetivo analisar a influência do modelo experimental e substrato nas alterações do esmalte dental decorrentes do tratamento clareador de consultório em diferentes tempos de análise. Materiais e Métodos: Um total de 140 discos contendo esmalte e dentina foram confeccionados, a dentina planificada e o esmalte polido e submetido ao teste de microdureza de superfície em KHN (MS) para padronização e seleção inicial dos espécimes (n= 80). A seguir, foram divididos em 8 grupos (n=10): G1- Controle *in vitro* em dentes humanos (VHC); G2- Clareamento *in vitro* utilizando agente clareador Pola Office a base de peróxido de hidrogênio a 35% (Pola PH 35%) em dentes humanos (VHP); G3- Controle *in situ* em dentes humanos (SHC); G4- Clareamento *in situ* com Pola PH 35% em dentes humanos (SHP); G5- Controle *in vitro* em dentes bovinos (VBC); G6- Clareamento *in vitro* com Pola PH 35% em dentes bovinos (VBP); G7- Controle *in situ* dentes bovinos (SBC); G8- Clareamento *in situ* com Pola PH 35% em dentes bovinos (SBP). O esmalte dental foi avaliado quantitativamente pelas análises de rugosidade, MS e microdureza longitudinal do esmalte em KHN (ML) e qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As análises de rugosidade e MS foram realizadas antes do início do tratamento (T0), após a 3ª semana de tratamento (T1) e 15 dias após o término do tratamento (T2). Já a análise de ML e as imagens de MEV foram realizadas apenas em T2. Os dados foram submetidos ao teste de homocedasticidade Shapiro-wilk, em seguida, foi realizada à análise de variância (ANOVA) dois fatores medidas-repetidas e pós-teste de Tukey ou Sidak ($p < 0,05$) ou teste de Friedman, seguido pelo teste post hoc de Wilcoxon com correção de Bonferroni. Resultados: Na comparação entre os modelos *in vitro* e *in situ*, em todas as análises realizadas, pode-se notar diferença estatisticamente significativa 15 dias após o término do tratamento clareador ($p < 0,05$), sendo evidente a recuperação do esmalte dentário no modelo *in situ*. Com relação aos substratos, estes apresentaram diferença estatística nas análises de MS e ML ($p > 0,05$). No tocante a análise dos grupos ao longo do tempo, nas variáveis rugosidade e MS, observou-se diferenças estatísticas ($p < 0,05$), comprovando a ação negativa do tratamento clareador em T1, seguida em T2 pela manutenção dessas alterações no grupo *in vitro* e recuperação dessas superfícies nos grupos *in situ*. Conclui-se que: O modelo experimental foi decisivo para o estudo das alterações do esmalte dentário clareado, pois, o

Resumo

modelo *in situ* permite redução ou recomposição das alterações dentárias promovidas pelo tratamento clareador.

- Em pesquisas sobre o clareamento dental, ambos os substratos empregados neste estudo podem ser utilizados, desde que, as diferenças existentes entre eles sejam consideradas no momento da interpretação dos dados.
- Os diferentes tempos de análise foram determinantes para a observação da ação do agente clareador sobre a estrutura dental.

Palavras-chave: Clareamento dental; Peróxido de hidrogênio; Esmalte dentário; Projeto de pesquisa; Técnica *in vitro*.

Abstract

SILVA UAE Influence of experimental model and substrate on alterations of clarified enamel.[Dissertation]. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

Abstract

Objective: The objective of the present study was to analyze, influence, model, experimental, substrate, birth, treatment, repair, surgery, different times, analysis. **Materials and Methods:** a total of 140 disctheques containing enamel and dentin were made, a planned dentin and polished omalmalte and submitted to the surface microhardness test in KHN (MS) for standardization and initial selection of spagos (n = 80). They were divided into 8 groups (n = 10): G1- In vitro control in human teeth (VHC); G2- In vitro bleaching, for example, Pola Office whitening agent, 35% hydrogen peroxide base (Pola PH 35%) in human teeth (VHP); G3-In situ control in human teeth (SHC); G4- In situ bleaching with Pola PH 35% in human teeth (SHP); G5- In vitro control in bovine teeth (VBC); G6- In vitro whitening with PH Pola 35% in bovine teeth (VBP); G7- In situ control of bovine teeth (SBC); G8- In situ bleaching with Pola PH 35% in bovine teeth (SBP). The enamel was evaluated quantitatively in the analysis of roughness, MS and longitudinal microhardness of the enamel in KHN (ML) and qualitatively by scanning electron microscopy (SEM). The roughness and MS analyzes were performed before the start of treatment (T0), after one week of treatment (T1) and 15 days after treatment (T2). Already an ML analysis and as SEM images were performed only in T2. The data were submitted to the Shapiro-wilk homoscedasticity test, then performed in analysis of variance (ANOVA) of measures and Tukey or Sidak test repetitions ($p < 0.05$) or Friedman's test, by the post test Hoc analysis of Wilcoxon with Bonferroni correction. **Results:** In the relativity of in vitro and in situ models, a statistically significant difference can be observed 15 days after the end of the bleaching treatment ($p < 0.05$) in all analyzes, In situ. Regarding the substrates, these presented a statistical difference in the MS and ML analyzes ($p > 0.05$). Regarding the analysis of the groups over time, in the roughness and MS variables, statistical statistics ($p < 0.05$) were observed, proving a negative action of the bleaching treatment in T1, instead of T2 through maintenance, there were no groups In vitro and surface recovery in in situ groups. It is concluded that: The experimental model was decisive for the study of the author's keywords, the in situ model allows to reduce or to reward the dental alternatives promoted by the bleaching treatment.

- In research on dental bleaching of the substrates used in the study can be used, since, as residues between them, are not considered in the interpretation version of the data.

- The different times of analysis were determinant for an observation of the action of the bleaching agent on a dental structure.

Keywords: Dental bleaching; Hydrogen peroxide; Dental enamel; Research project; In vitro technique.

Lista de Figuras

Lista de Figuras

Figura 1	Obtenção e padronização dos espécimes	64
Figura 2	Seleção e distribuição das amostras	64
Figura 3	DIP com espécime em posição	65
Figura 4	Etapa 2: Preparo dos discos para análise de microdureza em seção longitudinal do esmalte dentário	65
Figura 5	Micrografias realizadas em MEV, da superfície de esmalte dental humano e bovino 15 dias após o tratamento clareador nos diferentes modelos experimentais (aumentos 2500x)	66
Figura 6	Micrografias realizadas em MEV, da superfície de esmalte dental humano e bovino 15 dias após o tratamento controle (aumentos 2500x)	67

*Lista de
Tabelas*

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Valores médios de rugosidade superficial do esmalte dental de acordo com modelos experimentais (<i>in vito e in situ</i>) e substratos (humano e bovino) em diferentes tempos de análise	69
Tabela 2.	Valores médios de MS do esmalte dental de acordo com modelos experimentais (<i>in vito e in situ</i>) e substratos (humano e bovino) em diferentes tempos de análise	69
Tabela 3.	Valores médios de ML do esmalte obtidas em dentes humanos e bovinos de acordo com os modelos experimentais (<i>in vitro e in situ</i>)	70

*Lista de
Abreviaturas*

Lista de Abreviaturas

% = porcentagem

± = mais ou menos

µm = micrometros

°C = grau Celsius

Adj = Adjunto

ANOVA = Análise de variância

CEP = Comitê de Ética em Pesquisa

SHP = Clareamento in situ com Pola PH 35% em dentes humanos

SBP = Clareamento in situ com Pola PH 35% em dentes bovinos

VHP = Clareamento in vitro com Pola PH a 35% em dentes humanos

VBP = Clareamento in vitro com Pola PH 35% em dentes bovinos

SHC = Controle in situ em dentes humanos

SBC = Controle in situ em dentes bovinos

VHC = Controle in vitro em dentes humanos

VBC = Controle in vitro em dentes bovinos

DIP = Dispositivo Intrabucal Palatino

et al. = e colaboradores

g = gramas

h = hora

KHN = Knoop Hardness Number

MS = Microdureza superficial (Knoop Hardness Number)

ML = Microdureza em secção longitudinal (Knoop Hardness Number)

MEV = Microscopia eletrônica de varredura

mm = milímetro (unidade de medida equivalente a 10^{-3} m)

mm/s = milímetros por segundo

PC = peróxido de carbamida

pH = potencial hidrogênico

Pola PH 35% = Pola Office a base de peróxido de hidrogênio a 35%

Prof = Professor

Ra = Rugosidade aritmética ou média

UNESP = Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho

Sumária

Sumário

1.	Introdução	34
2.	Proposição	38
3.	Materiais e Método	40
3.1	Delineamento experimental	40
3.2	Obtenção e seleção dos espécimes	40
3.3	Estudo <i>in situ</i>	42
3.3.1	Seleção dos voluntários	42
3.3.2	Preparo do Dispositivo Intrabucal Palatino (DIP)	42
3.3.3	Tratamento superficial do esmalte dental	42
3.4	Estudo <i>in vitro</i>	43
3.5	Variáveis de Resposta	43
3.5.1	Primeira fase do experimento	43
3.5.1.1	Análise de rugosidade superficial	43
3.5.1.2	Análise da microdureza de superfície (MS)	43
3.5.2	Segunda fase do experimento	44
3.5.2.1	Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	44
3.5.2.2	Análise da microdureza em secção longitudinal (ML)	44
3.5.3	Tempos de análise	44
3.6	Análise estatística	45
4.	Resultado	47
5.	Discussão	51
6.	Conclusão	57
	Referências.....	59
	Figuras	64
	Tabelas	69
	Anexos.....	72

1

Introdução

1 Introdução

As alterações cromáticas dos elementos dentais estão entre os principais motivos que levam o paciente à procura por tratamento odontológico. Por esta razão, o clareamento dental vem sendo um dos procedimentos estéticos mais procurados nos consultórios odontológicos.^{1,2}

O mecanismo de ação dos materiais clareadores baseia-se na penetração do peróxido de hidrogênio através da estrutura dentária, sendo esta substância o componente ativo responsável pela oxidação dos agentes cromóforos, resultando em estruturas mais simples e, conseqüentemente, mais claras.^{3,4}

Os principais produtos utilizados para realização do clareamento dental são géis a base de peróxido de carbamida ou a base de peróxido de hidrogênio, empregados em diferentes concentrações, conforme a técnica empregada (caseira ou *in-office*).^{4,5}

Com intuito de obter uma alteração cromática intensa já na primeira sessão, há uma crescente procura pelos tratamentos *in-office*, que, de um modo geral, utilizam peróxidos em altas concentrações.^{6,7}

Mesmo com a adoção crescente de inúmeras terapias clareadoras, observa-se que, a literatura apresenta resultados controversos quanto ao efeito do clareamento no substrato adamantino. Alguns estudos mostram que o tratamento clareador promove alterações do esmalte dentário afetando os valores de microdureza, rugosidade ou o conteúdo mineral superficial e interno do esmalte.^{5,8,9,10} Por outro lado, alguns pesquisadores concluíram que os procedimentos clareadores não causariam qualquer tipo de dano no esmalte dental.^{11,12} Existem ainda relatos como os feitos por Spalding et al. 2003; Sa et al. 2012; Ferreira et al. 2011, afirmando que estas alterações são transitórias e sem relevância clínica podendo ser amenizadas pela ação remineralizadora da saliva ou soluções fluoretadas.^{13,14,15,16}

Parece existir uma considerável divergência na literatura, possivelmente resultante de diferentes metodologias empregadas, uma vez que, dificilmente são encontrados trabalhos bem delineados que adotam a mesma terapia clareadora no mesmo tipo de substrato e modelo experimental.^{17,18,19} A falta de padronização dos estudos e as diferentes variáveis de resposta

adotadas nas pesquisas geram dificuldades de comparação entre os dados oferecidos pela literatura.^{18,19}

Vale destacar que, os estudos *in vitro* são fundamentais para o delineamento de estudos clínicos. Entretanto, há limitações importantes que impedem a comparação direta dos resultados obtidos em pesquisas realizadas em laboratórios com as pesquisas clínicas. Neste cenário, os estudos *in situ* representam um estágio intermediário entre ensaios laboratoriais e clínicos podendo oferecer respostas relevantes, utilizando a precisão dos estudos laboratoriais e contemplando boa parte dos fatores biológicos presentes na cavidade oral tão determinantes na obtenção dos resultados nas pesquisas clínicas.^{5,20,21,22}

No que concerne aos substratos empregados, as amostras geradas a partir de dentes humanos são o tipo de substrato ideal para investigações *in vitro* e *in situ*. No entanto, a dificuldade para obtenção dessas amostras fez com que o dente bovino se tornasse o substituto mais utilizado em estudos odontológicos nos últimos anos.¹⁹ Entretanto, há uma preocupação quanto a correlação de dados obtidos de dentes bovinos comparados ao humano, pois, sua química e estrutura não são idênticas.^{36,37} Ainda que, estudos comparando ambos os substratos tenham sido realizados, existem dados inconsistentes quanto ao fato dos dentes bovinos serem o substituto apropriados para dentes humanos em experimentos.¹⁹

Apesar das inúmeras informações sobre o efeito dos agentes clareadores no substrato adamantino, a literatura mostra escassez de estudos que comprovem a influência do modelo experimental e substrato sobre as alterações do esmalte dental humano e bovino decorrentes do clareamento de consultório. Deste modo, a realização de estudos comparativos entre os modelos e substratos em diferentes tempos colaborará para a compreensão das informações ofertadas pela literatura, que se apresenta conflitante.

Diante disso, o presente estudo objetivou avaliar a influência do modelo experimental (*in vitro* e *in situ*) e substratos (*humano* e *bovino*) sobre as alterações do esmalte dental decorrentes do tratamento clareador de consultório em diferentes tempos de análise.

As hipóteses nulas deste estudo são:

- 1) O modelo experimental (*in vitro* e *in situ*) não influenciaria nas alterações de superfície causadas pelo clareamento dental;
- 2) O tipo de substrato (*humano* e *bovino*) não influenciaria nas alterações superficiais ocorridas durante o tratamento clareador.

- 3) O tempo de análise não influenciaria nas alterações de superfície decorrentes do clareamento dental.

2

Proposição

2 Proposição

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do modelo experimental (*in vitro e in situ*), substrato (*humano e bovino*) e tempos de análise sobre as alterações do esmalte dental decorrentes do tratamento clareador de consultório.



3

Materiais e Método

3 Materiais e Método

Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP sob o protocolo (CAAE: 46540715.4.0000.5420, Nº do parecer: 1.194.229) – AnexoA.

3.1 - Delineamento experimental

O presente estudo foi dividido em duas etapas:

Na primeira etapa, a pesquisa apresentou três fatores de estudo: 1- modelo experimental em 2 níveis (*in vitro* e *in situ*); 2- substrato em 2 níveis (esmalte bovino e esmalte humano); 3- tempos de análise em 3 níveis (T0– antes do início do tratamento, T1– após a 3ª semana de tratamento, T2– 15 dias após o término do tratamento clareador). As variáveis de resposta foram a rugosidade e a MS. A amostragem foi de 80 corpos-de-prova, sendo 40 amostras para cada modelo experimental. Para o modelo *in situ* cada voluntário recebeu quatro corpos-de-prova, portanto, cada grupo de estudo conteve 10 amostras.

Após o término das leituras, dois espécimes mais representativos (valores de rugosidade e MS mais próximos da mediana obtida por toda a amostra) de cada grupo foram selecionados para análise de superfície no Microscópio Eletrônico de Varredura.

A segunda etapa do experimento ocorreu apenas em T2 e apresentou dois fatores de estudo: 1- modelo experimental em 2 níveis (*in vitro* e *in situ*); 2- profundidade em 9 níveis (5µm, 10 µm, 15µm, 20µm, 40µm, 60µm, 80µm, 100µm, 120µm).

3.2 - Obtenção e seleção dos espécimes

Foram selecionados inicialmente 70 terceiros molares humanos recém-extraídos e 70 incisivos bovinos permanentes íntegros, considerando-se os seguintes critérios de exclusão: dentes com manchas, desgaste excessivo do terço incisal/oclusal, alterações morfológicas da coroa e trincas no esmalte. Os mesmos foram limpos mecanicamente com curetas periodontais afiadas e submetidos à profilaxia com pedra pomes e água, com auxílio de escova tipo Robinson (KG Sorensen Ind. E Com. Ltda, SP, Brasil), montada em baixa rotação. Para descontaminação e evitar a proliferação bacteriana os dentes limpos foram

armazenados em solução salina fisiológica contendo timol a 0,1%, pH 6,3 e mantidos em refrigerador em temperatura aproximada a 4°C até o momento do experimento.^{23,24}

Em seguida, foram realizados cortes transversais com intuito de separar as coroas das raízes. As coroas dentais foram fixadas em um dispositivo ligado a plataforma de uma furadeira de bancada (Ferrari Modelo FGC 16) e com auxílio de uma ponta diamantada para corte de vidro (Dinser Ferramentas Diamantadas Ltda.), sob intensa refrigeração, foram obtidos discos de esmalte/dentina com 4 mm de diâmetro a partir do terço médio da face vestibular das coroas dentais.

Para padronização da qualidade do substrato dentário, o esmalte dental foi polido e submetido ao teste de MS. Para tanto, os discos dentais foram fixados em uma base de acrílico, de tal forma que, a superfície de esmalte ficou exposta para receber os tratamentos superficiais necessários para a análise de microdureza. O aplainamento e polimento da superfície foram realizados em politriz (Aropol E - Arotec Indústria e Comércio Ltda, Cotia, São Paulo, Brasil), empregando discos abrasivos (Buehler, Ltda., Lake Bluff, IL, USA) nas granulações #600 e #800 por 2 minutos e #1200 por 4 minutos, em baixa velocidade e sob-refrigeração a água até que a espessura final alcance 2,5 mm, sendo 1,2mm ($\pm 0,14$) de esmalte e de 1,3mm ($\pm 0,1$) de dentina. O polimento final foi realizado com discos de feltro umedecidos em pasta diamantada de 1 μ m (Arotec S.A. Indústria e Comercio Ltda, Cotia, São Paulo, Brazil), durante 5 minutos (Figura 1).

A dureza do esmalte foi verificada por meio de um microdurômetro (HMV-2000 SHIMADZU, Maryland, USA), com indentador tipo Knoop atuando com carga estática de 25 gramas por 10 segundos. Foram realizadas 03 indentações, na região central dos 140 espécimes iniciais, com distância entre elas de 100 μ m.²⁶ O valor médio das 3 leituras foi convertido em valores de dureza Knoop, sendo selecionados para o experimento somente os espécimes (40 humanos e 40 bovinos) que apresentaram valores médios de MS próximos da mediana obtida por toda a amostra (+/- 5%). Após a seleção, os dentes foram distribuídos aleatoriamente para as etapas experimentais *in vitro* e *in situ* conforme ilustrado na Figura 2.

3.3 - Estudo *in situ*

3.3.1- Seleção dos voluntários

Foram selecionados 10 voluntários adultos jovens, estes receberam verbalmente e por escrito esclarecimentos detalhados sobre o estudo. Após a leitura e assinatura da declaração de consentimento livre e esclarecido (Anexo B), foram submetidos à anamnese e exame clínico. Posteriormente, receberam instruções de higiene oral, uma lista de orientações (Anexo C) e um estojo para guardar o aparelho durante as refeições. Os critérios de exclusão foram: gestantes ou lactantes, fumantes, voluntários com próteses removíveis, presença de distúrbios de ordem digestiva, presença e atividade de cárie, doença periodontal ativa, fluxo salivar reduzido, uso de aparelhos ortodônticos, doenças sistêmicas, uso de medicamentos que afetam o fluxo salivar, indisponibilidade de comparecer nas consultas.²⁰

3.3.2 - Preparo do Dispositivo Intrabucal Palatino (DIP)

Os arcos superiores dos voluntários foram moldados com hidrocolóide irreversível Alginato Jeltrate Plus (Dentsply Brasil, RJ, Brasil) e os modelos de trabalho foram obtidos em gesso pedra. Posteriormente, os DIPs foram confeccionados em resina acrílica contendo nichos de 4,5mm x 4,5mm x 2,5mm, onde foram fixadas as unidades experimentais com auxílio de cera pegajosa, permitindo à exposição dos espécimes as condições intraorais.

Em seguida, os espécimes foram esterilizados por meio de irradiação por microondas²⁵ e fixados nos DIPs com cera pegajosa (Kota Indústria e Comercio Ltda, SP, Brazil) (Figura 3).

3.3.3 - Tratamentos superficiais do esmalte dental

O tratamento clareador dos espécimes foi realizado fora da boca e, nesta mesma oportunidade, suas posições foram alteradas para evitar vieses sítio-específicos. Posteriormente, foram lavados e os DIPs devolvidos à cavidade oral.

Os voluntários compareceram uma vez por semana, durante três semanas, para a realização do clareamento de consultório. Nestas oportunidades, dois espécimes, sendo um de origem humana e um de origem bovina, não receberam quaisquer tratamentos, sendo considerados como controle. Outros dois espécimes receberam o tratamento com clareador,

Pola Office (SDI, North America Inc., Illinois, USA), que se apresenta comercialmente em dois frascos, um contendo espessante (3g de pó) e o outro o peróxido de hidrogênio 35% (líquido). A manipulação do produto clareador foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante, sendo misturada 1 colher de pó a 4 gotas do líquido. O gel foi aplicado sobre a superfície de esmalte com auxílio de um microbrush, onde permaneceu por 8 minutos. Em seguida, os dentes foram limpos e realizadas quatro novas aplicações, totalizando 32 minutos de exposição ao produto clareador. Este procedimento foi repetido por mais 2 sessões com intervalo entre elas de 7 dias. Após cada sessão, os dispositivos foram lavados e devolvidos para a cavidade bucal dos voluntários. Todos os espécimes foram devidamente identificados.

3.4 - Estudo *in vitro*

No experimento *in vitro* os substratos dentais humanos e bovinos foram fixados em discos de resina e as superfícies de esmalte receberam o mesmo tratamento de superfície descrito anteriormente para o experimento *in situ*.

Vale salientar que, entre as sessões clareadoras, os espécimes foram armazenados em frascos apropriadamente identificados a 37°C em 100% de umidade.¹³

3.5 - Variáveis de Resposta

3.5.1 - Primeira fase do experimento

3.5.1.1 - Análise da Rugosidade Superficial

As amostras foram submetidas às leituras de rugosidade superficial com auxílio do rugosímetro perfilômetro portátil SJ-401 (Mitutoyo Kanagawa, Japão), sendo obtido o Ra, que representa a média aritmética entre os picos e vales registrados. Foi utilizado um cut-off de 0,25mm a uma velocidade de 0,05mm/s. Foram efetuadas três leituras em diferentes posições, equidistantes entre si em cada espécime, para o cálculo da média aritmética.

3.5.1.2 - Análise da Microdureza de Superfície Knoop (MS).

Para a análise da MS do esmalte, as amostras foram submetidas a leituras em microdurômetro Micromet 5114 Hardness Tester (Buehler, Lake Bluff, EUA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japão), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para

análise de imagem Buehler OminMet (Buehler, Lake Bluff, EUA), com carga estática de 25g por 10 segundos. Em cada tempo de análise, foram realizadas três indentações na região central do espécime com distância de 100 μ m entre cada indentação.

3.5.2 - Segunda fase do experimento

3.5.2.1 - Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Após 15 dias do término do tratamento clareador, dois espécimes de cada grupo foram preparados para a análise em *Microscopia Eletrônica de Varredura* (Evo LS15, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), sendo recobertos com uma camada de ouro-paládio em metalizador (Balzers SCD-050 sputter coater, OC Oerlikon Corporation AG, Pfäffikon, Suíça). Os resultados obtidos nesta etapa foram analisados descritivamente, verificando as alterações qualitativas na morfologia da estrutura adamantina exposta ao clareamento dental de consultório.

3.5.2.2 - Análise da Microdureza em secção longitudinal Knoop (ML)

Para a análise de ML, 64 amostras, sendo 8 de cada grupo, foram seccionadas transversalmente e metade de cada espécime foi incluída em resina acrílica e gradualmente polido (Figura 4). Posteriormente, na superfície interna do esmalte foram realizadas três sequências de indentações, com 200 μ m de distância entre elas. Cada fileira conteve 9 indentações, nas profundidades de 5 μ m, 10 μ m, 15 μ m, 20 μ m, 40 μ m, 60 μ m, 80 μ m, 100 μ m, 120 μ m, utilizando microdurômetro com penetrador tipo Knoop a uma carga de 5g por 10s (Figura 4).

3.5.3 - Tempos de análise

As análises de rugosidade e MS do esmalte dental foram realizadas em 3 tempos distintos, sendo eles: (T0) antes do tratamento clareador; (T1) após a 3ª semana do tratamento clareador; (T2) 15 dias após o término do tratamento clareador, enquanto que, as análises de ML e as imagens de MEV foram realizadas apenas em T2, devido ao caráter destrutivo dessas análises.

3.6 - Análise estatística

Inicialmente os dados referentes à rugosidade, MS e ML do esmalte dentário foram submetidos ao teste de homocedasticidade shapiro-Wilk. Nos casos em que as variáveis apresentaram distribuição normal, utilizou-se ANOVA dois fatores para medidas repetidas, e pós-teste de Tukey ou Sidak ($p < 0,05$). O programa estatístico utilizado foi o Sigma Plot 12.3 (Exact Graphs and Analysis, San Jose, CA, EUA). Nos casos em que as variáveis não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste de Friedman, seguido pelo teste post hoc de Wilcoxon com correção de Bonferroni. O programa estatístico empregado foi o BioEstat 5.0.

A

Resultados

4 Resultados

Rugosidade Superficial

Os resultados de rugosidade superficial do esmalte considerando o modelo experimental, tipo de substrato e tempo de análise estão apresentados na Tabela 1.

Na tabela 1, ao comparar os grupos em relação aos modelos experimentais, observa-se que, em T0 e T1 todos os grupos foram estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$), no entanto, em T2 os grupos *in vitro* clareados com Pola 35% (VHP e VBP) foram semelhantes entre si ($p > 0,05$) diferindo dos grupos (SHP e SBP) *in situ* ($p < 0,05$), que também foram semelhantes entre si apresentando os menores valores de rugosidade ($p > 0,05$). Na comparação entre os grupos controle, nota-se semelhança estatisticamente significativa entre todos os grupos em todos os tempos ($p > 0,05$).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os substratos humano e bovino ($p > 0,05$).

No tocante a análise dos grupos ao longo do tempo, observa-se que, os grupos clareados com Pola 35%, VHP e VBP (*in vitro*), apresentam diferença estatística de T0 em relação a T1 e T2 ($p < 0,05$), e ainda, que estes foram semelhantes entre si ($p > 0,05$). Enquanto que, para os grupos *in situ* (SHP e SBP), observou-se diferença entre os tempos T0 e T1 sendo estes semelhantes a T2. Na análise dos grupos controle ao longo do tempo, nota-se que, todos os grupos apresentaram semelhança estatística em todos os tempos de análise ($p > 0,05$).

No que diz respeito ao tratamento de superfície (Pola 35% ou Controle), na análise dos grupos ao longo do tempo, observou-se que em T1 e T2 houve diferença estatisticamente significativa entre eles ($p < 0,05$), sendo em T1 os grupos VHP, SHP, VBP, SVP semelhantes entre si ($p > 0,05$) e diferindo de VHC, SHC, VBC, SBC que também foram semelhantes, apresentando os menores valores. Já em T2 verificou-se que os grupos clareados com Pola 35% (VHP, SHP, VBP, SBP) diferem estatisticamente entre si e dos demais grupos (controle) que apresentam menores valores de rugosidade ($p < 0,05$).

Microdureza Superficial Knoop (MS)

Os valores médios de MS do esmalte dental humano e bovino estão dispostos na Tabela 2, onde, ao comparar os modelos experimentais (*in vitro/ in situ*) ao longo do tempo, notou-se que, os grupos clareados com Pola 35% apresentaram semelhança estatística em T0 ($p>0,05$), no entanto, em T1 o grupo VBP difere estatisticamente de VSP e dos demais grupos ($p<0,05$), sendo estes semelhantes entre si ($p>0,05$). Já em T2 verificou-se diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos clareados ($p<0,05$), onde o modelo *in situ* apresentou os maiores valores médios de MS. Ainda na comparação dos modelos experimentais, ao analisar os grupos controle, constatou-se semelhança entre todos os grupos em todos os tempos ($p>0,05$).

No que diz respeito à comparação entre os substratos, não foi observada diferença estatisticamente significativa em T0. No entanto, nos demais tempos, houve diferença estatisticamente significativa entre os substratos humano e bovino ($p>0,05$), sendo os grupos VHP e VBP diferentes entre si em T1 e T2 e os grupos SHP e SBP diferentes em T2 ($p<0,05$). Vale destacar que, os menores valores de dureza superficial foram observados quando o substrato bovino foi clareado com o Pola Office. Na comparação entre os grupos controle não foi observada diferença estatística ($p>0,05$).

Ao analisar isoladamente os grupos clareados com Pola 35% em relação ao tempo, nota-se que, nos grupos VHP e VBP (*in vitro*) os maiores valores de dureza foram observados na leitura inicial, que diferiu estatisticamente da observada em T1 e T2 ($p<0,05$) semelhantes entre si ($p>0,05$). No entanto, a análise dos grupos *in situ* (SHP e SBP) revelaram diferença estatisticamente significante entre T0 e T1 ($p<0,05$), sendo T0 e T2 semelhantes entre si ($p>0,05$), com aumento significativo de MS do esmalte em T2, onde estes valores foram maiores que os valores iniciais (T0) no grupo SHP ($p<0,05$). Na análise individual dos grupos controle ao longo do tempo não houve diferença estatisticamente significante ($p>0,05$).

Na comparação dos grupos de acordo com tratamentos de superfície (Pola 35% ou Controle) ao longo do tempo, observou-se semelhança entre todos os grupos em T0 ($p>0,05$). No entanto, em T1 houve diferença estatisticamente significante entre todos os grupos clareados e os grupos controle ($p<0,05$). Já em T2 o grupo SHP mostrou-se estatisticamente semelhante aos grupos controle *in situ* (SHC e SBC) ($p>0,05$), os demais grupos apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p<0,05$).

Microdureza em secção longitudinal Knoop (ML)

Na tabela 3 estão dispostos os valores médios de ML dental humana e bovina obtidos 15 dias após o término do tratamento clareador de consultório.

Ao analisar isoladamente os grupos, no que diz respeito ao modelo experimental, notou-se que, os grupos clareados com Pola 35% referentes ao modelo *in vitro* apresentaram um aumento contínuo dos valores médios de ML, desde a primeira indentação da subsuperfície (5 μ m) até a profundidade de 80 μ m. Fato semelhante foi observado nos espécimes do modelo *in situ* (SHP e SBP), no entanto, a estabilização dos valores ocorreu a partir dos 60 μ m. Na comparação entre os modelos experimentais dos grupos controle, nota-se que, houve uma redução dos valores de ML na profundidade de 10 μ m diferente estatisticamente das demais leituras ($p < 0,05$), e sendo estas semelhantes entre si ($p > 0,05$).

No que concerne aos substratos (humano e bovino), estes foram estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$).

Na comparação entre os grupos com relação ao tratamento de superfície (Pola 35% ou Controle) observou-se diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos $p < 0,05$.

A análise de superfície em Microscopia eletrônica de varredura (MEV) está representada na Figura 5: VHP e VBP (modelo *in vitro*, clareador com Pola 35%): São observadas irregularidades do esmalte geradas pela dissolução substancial da camada aprismática do esmalte dental com consecutivo aumento de sua porosidade (aumento de 2500x). SHP e SBP: Modelo *in situ* clareado com Pola 35%. Observa-se uma superfície dental homogênea com alguns arranhões dispersos devido ao processo de polimento. Não há evidência de prismas do esmalte, apenas leves irregularidades em seu relevo (aumento de 2500x). Figura 6: Grupos controle. VHC e VBC (modelo *in vitro*), SHC e SBC (modelo *in situ*): são observadas superfícies dentais homogêneas, com riscos (ranhuras) e irregularidades em sua superfície devido ao processo de polimento com emprego de lixas abrasivas (aumento de 2500x).

Discussão

5 Discussão

As alterações do esmalte dentário decorrentes do tratamento clareador têm sido avaliadas através de diferentes técnicas, variando desde análises superficiais até análises internas da estrutura.^{5,26,27} No entanto, a comparação entre os dados oferecidos pela literatura é dificultada pela falta de padronização entre os estudos e, sobretudo, pela diferença entre modelos experimentais adotados.^{17,18,19}

Neste contexto, todas as análises realizadas no presente estudo indicam que o modelo experimental é decisivo para a obtenção dos resultados, fazendo com que a primeira hipótese nula do estudo seja rejeitada.

Assim, como relatado em outros estudos^{8, 24,25} e confirmado pela comparação com grupos controle, o presente estudo indica que a rugosidade superficial do esmalte dentário foi negativamente afetada pelo tratamento clareador. Contudo, 15 dias após o seu término, observou-se a manutenção dos valores de rugosidade no modelo experimental *in vitro*, enquanto que, no modelo *in situ*, notou-se considerável redução destes valores. Estes dados corroboram com outros estudos^{15, 16,27,28} e se justificam pela troca iônica ocorrida entre a saliva e a superfície do esmalte dental reestabelecendo o equilíbrio desta superfície. Possivelmente, o esmalte clareado por apresentar alta energia superficial torna-se mais receptivo ao depósito mineral decorrente do fluxo iônico salivar, o que faz com que a alteração da rugosidade seja reduzida.²⁹

Quando analisados os resultados de MS, a comparação entre os modelos experimentais *in vitro* e *in situ*, demonstrou que, todos os grupos de estudo apresentaram redução significativa dos valores médios de MS imediatamente após o tratamento clareador. Este resultado se deve à perda mineral do substrato adamantino reafirmando achados de outros experimentos.^{8,17,26,30,31} No entanto, a análise final da superfície dentária revelou a manutenção dos valores médios de MS no modelo experimental *in vitro*, diferindo do modelo experimental *in situ*, que apresentou aumento significativo desses valores, a MS final inclusive superou os valores iniciais obtidos no grupo SHP o que o tornou semelhante a grupos controle em T2. Este resultado sugere a remineralização da superfície dentária, indo ao encontro de outros experimentos *in situ*, que ao expor a superfície dentária clareada a ação da saliva relataram recomposição mineral da superfície dentária.^{6,16,32,33}

Heshmat e colaboradores³³, em 2016, também observaram um aumento significativo dos valores de MS do esmalte dentário em comparação com os valores iniciais. Os autores sugerem que a desmineralização provocada pelos agentes clareadores tornam a superfície consideravelmente mais reativa podendo haver alta reposição mineral.³³ Além disso, no presente estudo, não houve restrições quanto ao contato de fluoretos, o que certamente colaborou para a elevada remineralização superficial do substrato.

No tocante às alterações de ML do esmalte dentário, a análise realizada 15 dias após o término do tratamento clareador, mostrou que o modelo *in vitro* clareado com Pola 35% apresentou um aumento dos valores de ML até a profundidade de 80µm, enquanto que, o modelo *in situ* (SHP e SBP), obteve estabilização dos valores de ML a partir dos 60 µm. Ao comparar tais achados aos resultados obtidos pelos grupos controle, que demonstraram redução dos valores ML apenas na subsuperfície (10µm), com estabilização desses valores nas demais profundidades, confirma-se a ação do agente clareador nas porções mais profundas do esmalte dentário. Supõe-se que as alterações observadas sejam causadas pela ação do peróxido de hidrogênio e as suas formas reativas de oxigênio, de baixo peso molecular, que se difundem através da estrutura dentária e podem não somente promover alterações na superfície do esmalte dentário, mas também em suas estruturas internas.^{5,32} No entanto, não se descarta a hipótese de que o pH ácido do gel clareador possa ter contribuído para uma maior desmineralização do substrato (pH= 3.56–3.8).³⁴

Efeoglu et al, 2006,⁵ por meio de Microtomografia computadorizada (Micro-CT), também observaram redução significativa no conteúdo mineral do esmalte dentário após o tratamento clareador com PC 35% (Opalescence Quick, Ultradent, EUA). No entanto, as alterações avançaram até a profundidade de 250 µm. Possivelmente, o tempo de aplicação do gel clareador contribuiu para o encontro de alterações em maiores profundidades, pois, o tempo correspondeu ao máximo de aplicação recomendado pelo fabricante. Soma-se a isso, o diminuto tempo de exposição à saliva quando comparado ao presente estudo e a outras publicações,^{9,15,34} uma vez que, permitiu apenas 24h de remineralização da superfície dentária. Vale destacar que, ao observar um pH de 6.7, os autores descartaram a hipótese de que o pH do gel clareador pudesse ter influência sobre a desmineralização, sendo esta atribuída unicamente a ação do gel clareador durante o tempo de aplicação.

Mais recentemente, Briso et al, 2015,³² observaram que, o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP Maxx; FGM Produtos Odontológicos, Joinville,

SC, Brazil) causou alterações do esmalte dentário até a profundidade de 20µm em dentes hígidos, e em dentes anteriormente desmineralizados essas alterações chegaram a profundidade de 90µm. O tempo de aplicação do produto clareador foi o mesmo adotado no presente estudo. A razão para que este tenha encontrado alterações em menores profundidades que o presente estudo pode estar relacionado ao pH do gel clareador empregado. Durante a aplicação, o gel clareador utilizado por Briso et al, 2015,³² apresentou alteração do pH de 7 para 5, enquanto o gel clareador Pola PH 35% apresenta pH mais ácido. Os autores também acreditam que a acidificação do produto poderia ter causado alterações histomorfológicas significativas na superfície do esmalte. Apoiando esta conjectura, aos resultados obtidos por Sa, 2013,³⁵ que observou que os agentes clareadores com baixos valores de pH poderiam induzir alterações das superfícies de esmalte sob a situação *in vitro*, no entanto, nenhuma alteração foi observada em amostras expostas a condições *in situ*, corroborando com nossos achados.

A análise morfológica do esmalte dentário obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) indica que o modelo experimental é capaz de influenciar as alterações superficiais do esmalte clareado. A imagem correspondente ao modelo *in vitro* evidencia o efeito adverso do clareamento dental de consultório sobre a estrutura adamantina, ainda mais, quando comparadas as imagens obtidas do grupo controle. Nota-se no modelo *in vitro*, irregularidades na superfície do esmalte dental devido à dissolução da camada aprismática do esmalte dentário, observações já realizadas em outros estudos^{30,35}. Tendo o aumento da porosidade superficial como resultado da dissolução superficial dos prismas após o clareamento dental.

Em contrapartida, a imagem obtida no modelo experimental *in situ* corresponde a uma superfície homogênea com pouca ou nenhuma evidência da ação do tratamento clareador sobre essa superfície, o que torna esta semelhante às imagens obtidas pelos grupos controle. Estudos confirmam este resultado e atribuem à reconstituição superficial ao efeito remineralizador da saliva.^{16,26} No entanto, Spalding, 2003,¹⁶ ao utilizar um gel a base de peróxido de hidrogênio com pH neutro e Kwon, 2015,²⁶ ao empregar géis clareadores de menores concentrações variando de 9,5 a 25% de peróxido, unido ao pH neutro dos mesmos de 6 a 7,4, pode ter gerado menores alterações à superfície favorecendo o restabelecimento da normalidade superficial.

Quando comparados os grupos em relação aos substratos (humano e bovino), observou-se diferença estatística significativa no que diz respeito a variável MS. Deste modo, rejeita-se a segunda hipótese nula deste estudo.

No tocante a MS, apenas os grupos clareados com Pola 35% apresentaram diferença estatisticamente significativa, com substrato bovino apresentando os menores valores de MS. Neste contexto, Yassen et al, 2011³⁹, ao realizarem uma revisão de literatura, onde incluíram trabalhos que comparam as características morfológicas, composição química e propriedades físicas de dentes humanos e bovinos, estes observaram dados inconsistentes. Segundo os autores, estudos apontam diferenças entre estes substratos quanto à progressão e profundidade de lesões de cárie, MS, adesão/resistência adesiva entre outras, o que torna duvidosa a afirmação de que os dentes bovinos podem ser considerados substituto adequado para os dentes humanos. Afirmaram ainda que, as diferenças devem ser consideradas ao interpretar os resultados obtidos de qualquer experimento com substrato de dentes bovinos.

Já Fonseca et al, 2008, ao comparar a MS do esmalte dental humano e bovino observaram que os animais com idade mais avançada (38 e 48 meses) obtiveram valores semelhantes, enquanto que, os grupos etários mais jovens (20 e 30 meses) apresentaram valores de dureza significativamente maiores que os dentes humanos. Neste contexto, os espécimes bovinos empregados neste estudo foram obtidos de animais com idade entre 24 e 36 meses, sendo realizada a posterior padronização dos espécimes por meio da MS inicial dos discos humanos e bovinos obtidos, como forma de viabilizar a comparação entre estes substratos.

Além disso, o provável uso de produtos fluoretos anteriormente a obtenção dos espécimes dentais, pode ter colaborado para a maior resistência do substrato humana à ação clareadora.

Em contrapartida, Soares et al, 2016³⁹, consideraram o dente bovino como substituto adequado aos dentes humanos nos ensaios de resistência de união, corroborando com o presente estudo que revela ser possível a utilização de ambos os substratos dentais (humano e bovino) para realização de pesquisas no campo de clareamento, pois observou-se que ambos os substratos apresentaram respostas semelhantes na maior parte das análises do esmalte realizadas.

No que diz respeito à terceira hipótese nula deste estudo, esta foi rejeitada, pois o tempo de análise influenciou as alterações do esmalte dentário obtidas.

O fato de se observar alterações dos valores de rugosidade e MS do esmalte imediatamente após o término do tratamento clareador (T1) e a redução dessas alterações, após 15 dias de exposição à saliva no modelo *in situ* (T3), assemelhando-se aos valores apresentados pelos grupos controle, mostra a importância do tempo na compreensão do efeito dos agentes clareadores. Estas informações foram comprovadas por vários autores^{15,16,18,27,30}. No entanto, Worschech, et al., 2003,³¹ ao utilizar PC 35% (Opalescence Quick, Ultradent Co. South Jordan, UT, USA), não observou alterações do esmalte no decorrer do tempo. Contudo, vale salientar que o clareador empregado por Worschech, et al., 2003 possui pH neutro, além disso, a amônia resultante da degradação do PC e a presença da ureia desempenha função relevante na elevação do pH salivar e da placa bacteriana; ao contrário dos agentes clareadores com pH ácido que causam temores sobre a promoção de alterações nas estruturas dentárias.

Mesmo com as limitações do presente estudo, como falta de mensuração do pH do produto pré, durante e pós sua aplicação, emprego de um grupo controle com saliva artificial ou natural com a mensuração de seu pH, entre outras limitações que devem ser sanadas em próximas pesquisas. Considera-se que, o modelo experimental e o tempo de análise são imprescindíveis para a compreensão das alterações do esmalte clareado. Já com relação aos substratos, ambos podem ser empregados na realização de futuros experimentos. Sendo necessários mais estudos, buscando avaliar outras características físico-químicas do esmalte dentário clareado empregando para isso diferentes géis clareadores.



6

Conclusão

6 Conclusão

Conclui-se que:

- O modelo experimental foi decisivo para o estudo das alterações do esmalte dentário clareado, pois, o modelo *in situ* permite redução ou recomposição das alterações dentárias promovidas pelo tratamento clareador.
- Em pesquisas sobre o clareamento dental, ambos os substratos empregados neste estudo podem ser utilizados, desde que, as diferenças existentes entre eles sejam consideradas no momento da interpretação dos dados.
- Os diferentes tempos de análise foram determinantes para a observação da ação do agente clareador sobre a estrutura dental.

Referências

Referências

1. Neumann LM, Christensen C, Cavanaugh C (1989) Dental esthetic satisfaction in adults. *J Am Dent Assoc*, **118**:565–570.
2. AM Sulieman, M (2008). An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontology* 2000, **48**(1), 148-169.
3. Gomes MN, Dutra H, Morais A, Sgura R, Devito-Moraes AG (2016) In Office Bleaching During Orthodontic Treatment. *J Esthet Restor Dent*. **Oct 28**. doi: 10.1111/jerd.12276.
4. Dahl JE, Pallesen U (2003) Tooth bleaching—a critical review of the biological aspects. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*; **14**:292–304.
5. Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C (2007) Thirty-five percent carbamide peroxide application causes in vitro demineralization of enamel. *Dent Mater*. **Jul;23**(7):900-4. Epub 2006 Sep 25.
6. Meireles SS, Heckmann SS, Santos IS, Della Bona A, Demarco FF (2008) A double blind randomized clinical trial of at-home tooth bleaching using two carbamide peroxide concentrations: 6-month follow-up. *J Dent*. **Nov;36**(11):878-84. doi: 10.1016/j.jdent.2008.07.002. Epub 2008 Aug 22.
7. de Almeida, L. C. A. G., Soares, D. G., Gallinari, M. O., de Souza Costa, C. A., dos Santos, P. H., & Briso, A. L. F. (2015). Color alteration, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity caused by in-office bleaching protocols. *Clinical oral investigations*, **19**(3), 673-680.
8. Pinto, C. F., Oliveira, R. D., Cavalli, V., & Giannini, M. (2004). Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Brazilian Oral Research*, **18**(4), 306-311.
9. De Abreu, D. R., Sasaki, R. T., Amaral, F. L. B., FLÓRIO, F., & Basting, R. T. (2011). Effect of Home-Use and In-Office Bleaching Agents Containing Hydrogen Peroxide Associated with Amorphous Calcium Phosphate on Enamel Microhardness and Surface Roughness. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, **23**(3), 158-168.

10. Markovic, L., Jordan, R. A., Lakota, N., & Gaengler, P. (2007). Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching. *Journal of endodontics*, **33**(5), 607-610.
11. RT Basting, FLB Amaral, FMG França, FM Flório (2012) Clinical Comparative Study of the Effectiveness of and Tooth Sensitivity to 10% and 20% Carbamide Peroxide Home-use and 35% and 38% Hydrogen Peroxide In-office Bleaching Materials Containing Desensitizing Agents. *Operative Dentistry*. September/October **37**(5):464. DOI:10.2341/11-337-C.
12. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, et al. (2002) Peroxide interactions with hard tissues: effects on surface hardness and surface/subsurface ultrastructural properties. *Compend Contin Educ Dent*; **23**:42–8.
13. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H (2004) Effect of diferent peroxide bleaching regumens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent*. **Oct**; **92**(4):337-42.
14. Singh, R. D., Ram, S. M., Shetty, O., Chand, P., & Yadav, R. (2010). Efficacy of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to prevent stain absorption on freshly bleached enamel: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, **13**(2), 76.
15. Sa, Y., Chen, D., Liu, Y., Wen, W., Xu, M., Jiang, T., & Wang, Y. (2012). Effects of two in-office bleaching agents with different pH values on enamel surface structure and color: an in situ vs. in vitro study. *Journal of dentistry*, **40**, e26-e34.
16. Spalding M, Taveira LA, de Assis GF (2003). Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *J Esthet Restor Dent*; **15**:154–64.
17. Joiner, A. (2007). Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *Journal of dentistry*, **35**(12), 889-896.
18. Goldberg, M., Grootveld, M., & Lynch, E. (2010). Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. *Clinical oral investigations*, **14**(1), 1-10.
19. Joiner, A. (2006). The bleaching of teeth: a review of the literature. *Journal of dentistry*, **34**(7), 412-419.
20. De Arruda, A. M., Santos, P. D., Sundfeld, R. H., Berger, S. B., & Briso, A. L. F. (2012). Effect of hydrogen peroxide at 35% on the morphology of enamel and

- interference in the de-remineralization process: an in situ study. *Operative dentistry*, **37(5)**, 518-525.
21. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC (2007). Micromorphology and surface roughness of sound and demineralized enamel and dentin bleaching with a 10% carbamide peroxide bleaching agent. *Am J Dent*; **20**: 97-102.
 22. Zero DT. (1995). In situ caries models. *Adv Dent Res*. **Nov;9(3)**:214-30; discussion 231-4.
 23. Freitas, M. P. M., Oshima, H. M. S., Farret, M. M., Gonçalves, T. S., Lima, E. M. S. D., Kochenborger, R., & Menezes, L. M. D. (2010). Influência de variáveis metodológicas na resistência de união ao cisalhamento. *Dental Press J Orthod*, **15(1)**:80-8.
 24. Amaral, A. C. M. T. (2014). Avaliação da influência dos meios de armazenamento na microdureza do esmalte e da dentina em dentes humanos (Doctoral dissertation).
 25. Viana, P. S., Machado, A. L., Giampaolo, E. T., Pavarina, A. C., & Vergani, C. E. (2010). Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization processes. *Caries research*, **44(4)**, 349-357.
 26. Kwon, S. R., Kurti, S. R., Oyoyo, U., & Li, Y. (2015). Effect of various tooth whitening modalities on microhardness, surface roughness and surface morphology of the enamel. *Odontology*, **103(3)**, 274-279.
 27. Khoroushi, M., Shirban, F., Doustfateme, S., & Kaveh, S. (2015). Effect of three nanobiomaterials on the surface roughness of bleached enamel. *Contemporary clinical dentistry*, **6(4)**, 466.
 28. Joiner A, Thakker G & Cooper Y (2004) Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro. *Journal of Dentistry* **32(1)** 27-34.
 29. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. (2010) New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. **89**:1187–97.
 30. Ferreira, S. D. S., Araújo, J. L. N., Morhy, O. N., Tapety, C. M. C., Youssef, M. N., & Sobral, M. A. P. (2011). The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microscopy research and technique*, **74(6)**, 512-516.

31. Worschech, C. C., Rodrigues, J. A., Martins, L. R. M., & Ambrosano, G. M. B. (2003). In vitro evaluation of human dental enamel surface roughness bleached with 35% carbamide peroxide and submitted to abrasive dentifrice brushing. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, **17(4)**, 342-348.
32. Briso, A. L. F., Gonçalves, R. S., Costa, F. B. D., Gallinari, M. D. O., Cintra, L. T. A., & Santos, P. H. D. (2015). Demineralization and hydrogen peroxide penetration in teeth with incipient lesions. *Brazilian dental journal*, **26(2)**, 135-140.
33. Sa, Y., Sun, L., Wang, Z., Ma, X., Liang, S., Xing, W., ... & Wang, Y. (2013). Effects of two in-office bleaching agents with different pH on the structure of human enamel: an in situ and in vitro study. *Operative dentistry*, **38(1)**, 100-110.
34. Heshmat, H., Ganjkar, M. H., Miri, Y., & Fard, M. J. K. (2016). The effect of two remineralizing agents and natural saliva on bleached enamel hardness. *Dental research journal*, **13(1)**, 52.
35. Abe, A. T., Youssef, M. N., & Turbino, M. L. (2016). Effect of bleaching agents on the nanohardness of tooth enamel, composite resin, and the tooth-restoration interface. *Operative dentistry*, **41(1)**, 44-52.
36. Soares, F. Z. M., Follak, A., da Rosa, L. S., Montagner, A. F., Lenzi, T. L., & Rocha, R. O. (2016). Bovine tooth is a substitute for human tooth on bond strength studies: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Dental Materials*, **32(11)**, 1385-1393.
37. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A (1988) Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. *J Dent Res* **67**, 1523-1528.
38. Arends J, Christoffersen J, Ruben J, Jongebloed WL (1989) Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res*, **23**, 309-314.
39. Yassen, G. H., Platt, J. A., & Hara, A. T. (2011). Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *Journal of oral science*, **53(3)**, 273-282.
40. Fonseca, R. B., Haiter-Neto, F., Carlo, H. L., Soares, C. J., Sinhoreti, M. A. C., Puppim-Rontani, R. M., & Correr-Sobrinho, L. (2008). Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine teeth age. *Archives of oral biology*, **53(11)**, 1023-1029.

Figuras

Figuras

Figura 1 - Obtenção e padronização dos espécimes.

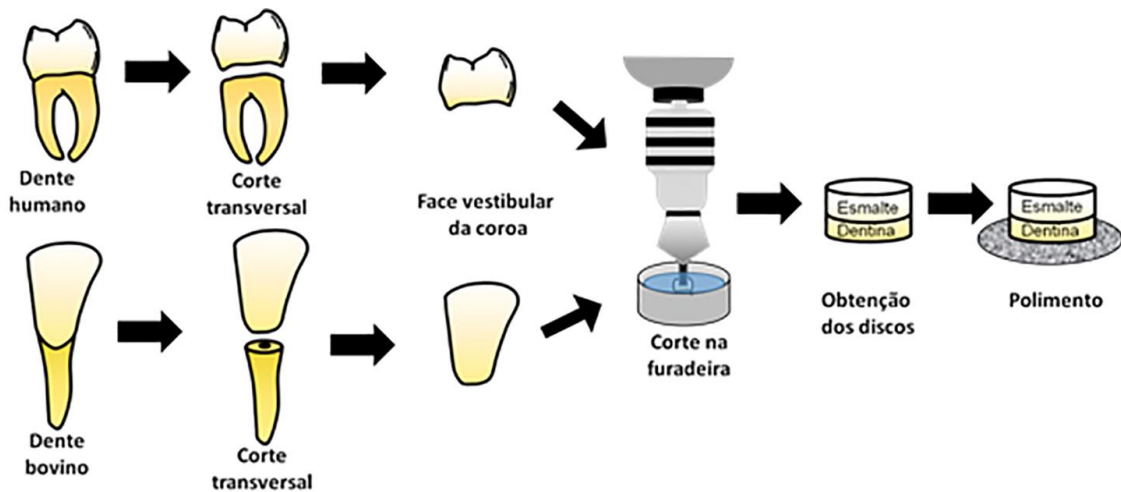


Figura 2 - Seleção e distribuição das amostras.

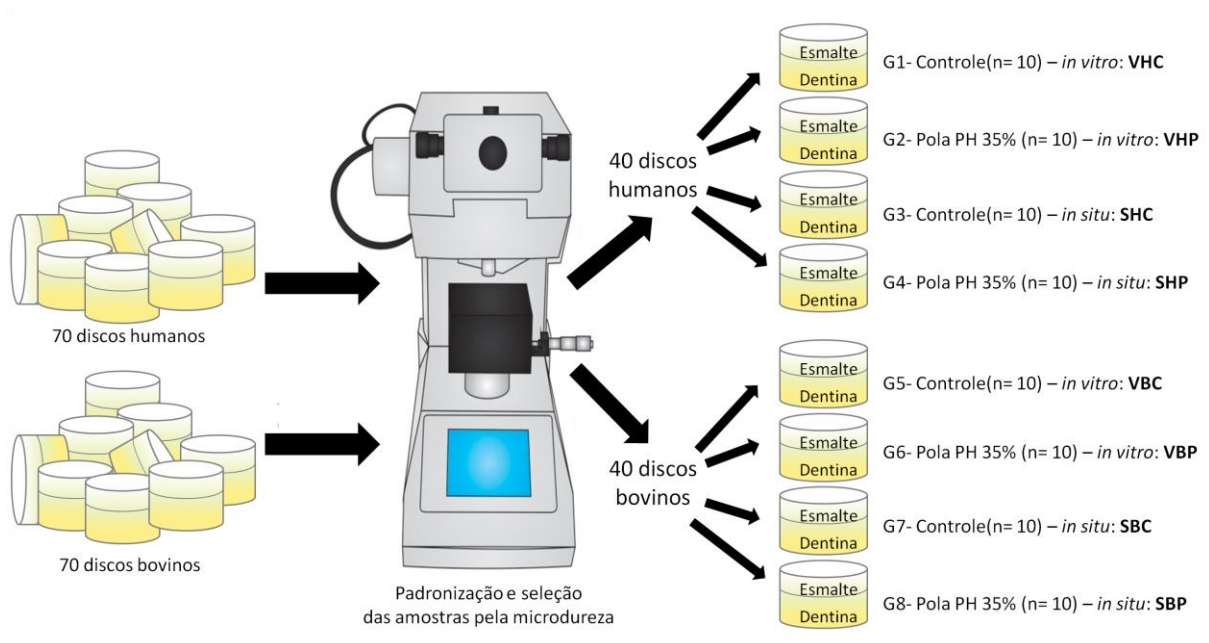


Figura 3 - DIP com espécime em posição

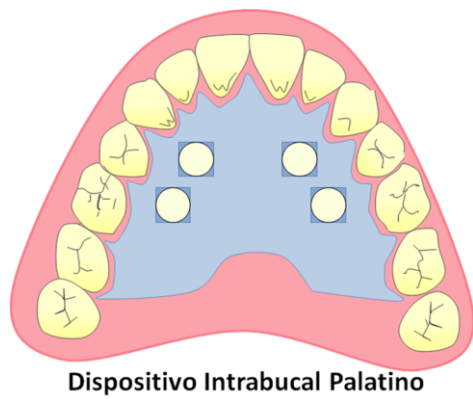


Figura 4 - Etapa 2: Preparo dos discos para análise de Microdureza interna do esmalte dentário.

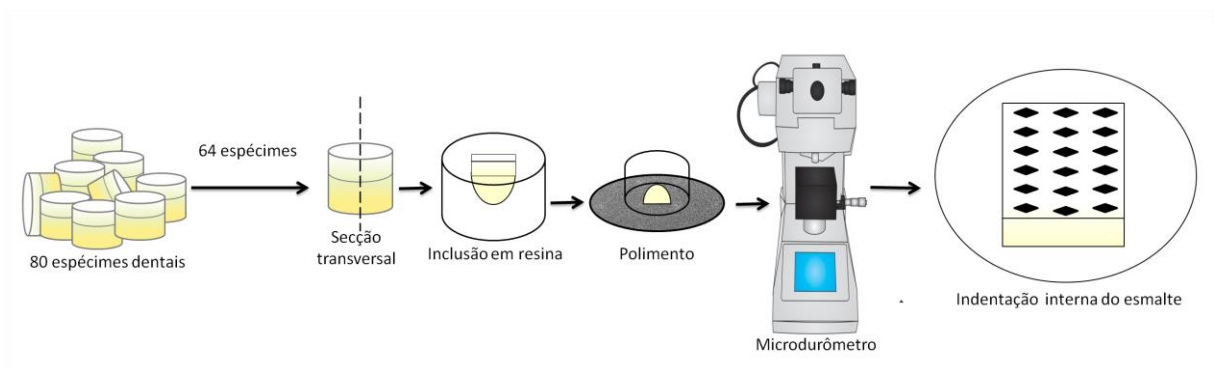


Figura 5 - Análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grupos clareados com Pola 35%, 15 dias após o término do tratamento clareador.

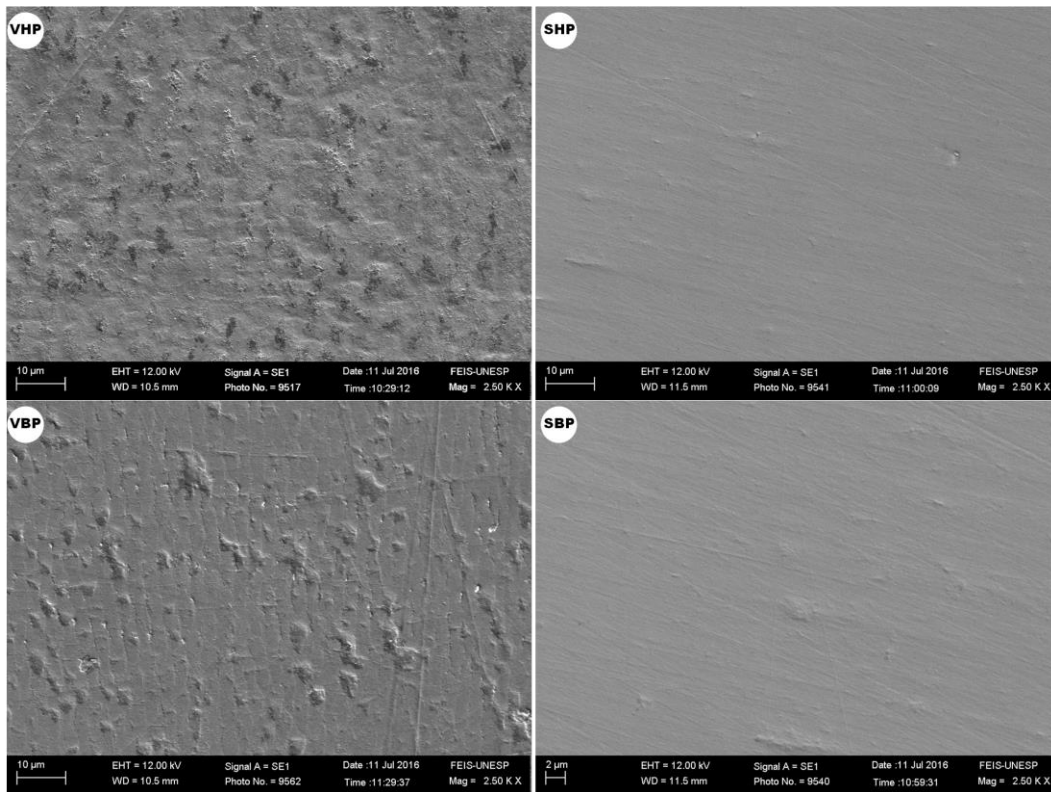
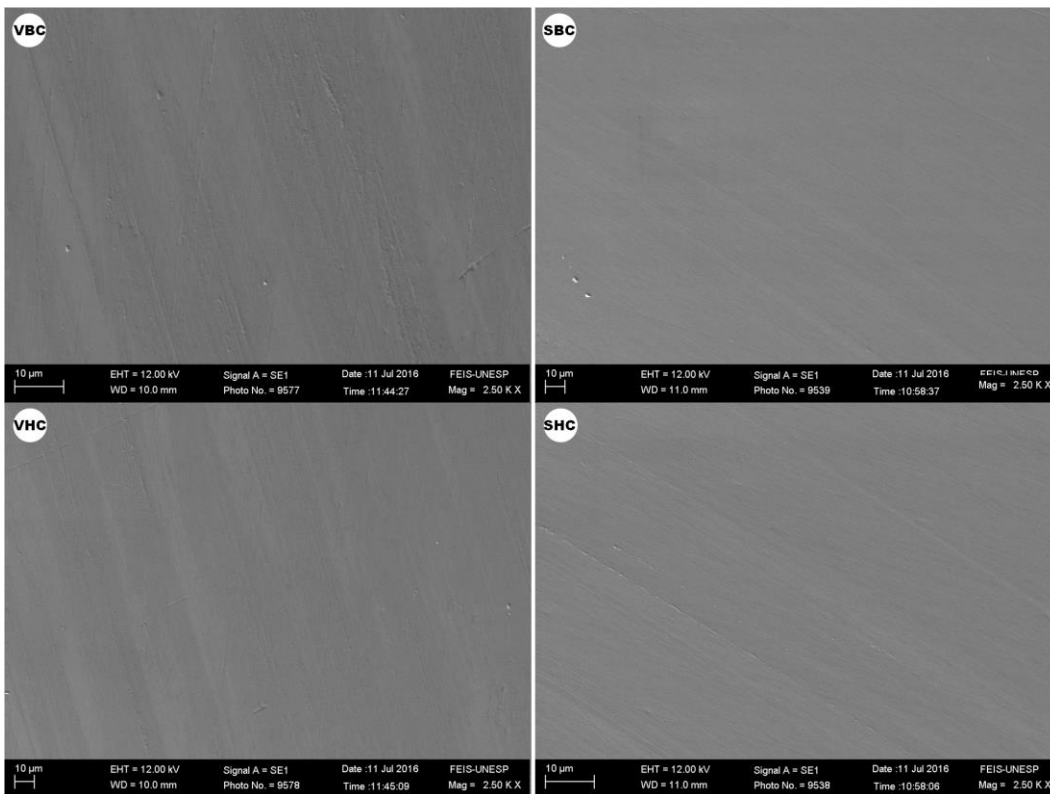


Figura 6 - Análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grupos controle, 15 dias após o término do tratamento clareador.



Tabelas

Tabelas

Tabela 1. Valores médios de rugosidade superficial do esmalte dental, de acordo com modelos experimentais (*in vivo* e *in situ*) e substratos (humano e bovino) em diferentes tempos de análise.

	Grupos	Ra (T0)	Ra (T1)	Ra (T2)
Pola	PVH	0,027 ± 0,004Ab	0,054 ± 0,013Aa	0,054 ± 0,013Aa
	PSH	0,026 ± 0,004Ab	0,056 ± 0,007Aa	0,044 ± 0,007Bab
	PVB	0,028 ± 0,004Ab	0,059 ± 0,007Aa	0,057 ± 0,007Aa
	PSB	0,027 ± 0,004Ab	0,048 ± 0,010Aa	0,043 ± 0,008Bab
Controle	CVH	0,028 ± 0,005 Aa	0,003 ± 0,005 Ba	0,003 ± 0,006 Ca
	CSH	0,027 ± 0,005 Aa	0,026 ± 0,004 Ba	0,025 ± 0,003 Ca
	CVB	0,026 ± 0,004 Aa	0,026 ± 0,004 Ba	0,025 ± 0,003 Ca
	CSB	0,027 ± 0,003 Aa	0,031 ± 0,004 Ba	0,032 ± 0,004 Ca

Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

Tabela 2. Valores médios de microdureza Knoop (ML) do esmalte dental, de acordo com modelos experimentais (*in vivo* e *in situ*) e substratos (*humano* e *bovino*), em diferentes tempos de análise.

	Grupos	ML (T0)	ML (T1)	ML (T2)
Pola	VH	340,5 ± 6,4 Aa	254,4 ± 10,9 Bb	255,1 ± 11,5 Cb
	SH	341,3 ± 6,5 Aa	263,2 ± 12,1 Bb	353,8 ± 16,0 Aa
	VB	340,9 ± 6,8 Aa	233,4 ± 07,8 Ca	232,7 ± 8,1 Db
	SB	341,4 ± 6,1 Aa	254,7 ± 16,9 Bb	338,8 ± 11,2 Ba
Controle	VH	341,25 ± 3,42 Aa	340,86 ± 5,79 Aa	341,51 ± 6,02 Ba
	SH	340,20 ± 7,34 Aa	341,94 ± 5,03 Aa	343,50 ± 4,66 ABA
	VB	341,2 ± 6,33 Aa	341,3 ± 5,45 Aa	341,7 ± 6,73 Ba
	SB	340,8 ± 5,34 Aa	342,9 ± 5,73 Aa	343,4 ± 6,49 ABA

Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$)

Tabela 3. Valores médios da microdureza em secção longitudinal (LKHN) do esmalte obtidas em dentes humanos e bovinos, de acordo com os modelos experimentais (in vitro e in situ).

Profundidade	Grupos							
	VHP	SHP	VBP	SBP	VHC	SHC	VBC	SBC
5 µm	127,7 Ec	249,9 Eb	118,8 Ec	242,1 Eb	307,0 ABa	308,6 ABa	310,5 Aba	307,8 ABa
10 µm	145,7 Ed	251,8 DEbc	139,1 Ed	238,7 DEc	286,5 Ba	284,1 Ba	281,1 Bab	282,2 Ba
15 µm	200,3 Dc	279,3 CDEb	204,3 Dc	278,3 CDb	315,0 ABa	313,6 ABa	316,7 Aa	311,3 ABa
20 µm	240,3 Cb	296,9 Ca	234,7 Cb	294,1 Ca	318,3 ABa	317,0 ABa	321,8 Aa	315,4 ABa
40 µm	266,8 BCb	310,5 BCa	255,5 Cb	309,0 BCa	334,5 Aa	333,0 Aa	332,8 Aa	333,0 Aa
60 µm	286,1 Bb	324,5 ABa	284,6 Bb	325,8 ABa	335,7 Aa	331,4 Aa	338,2 Aa	337,2 Aa
80 µm	332,2 Aa	334,6 ABa	328,8 Aa	326,7 ABa	336,1 Aa	335,7 Aa	336,7 Aa	336,8 Aa
100 µm	336,9 Aa	339,2 ABa	338,2 Aa	333,3 ABa	336,7 Aa	337,2 Aa	336,8 Aa	337,7 Aa
120 µm	340,7 Aa	339,9 ABa	339,7 Aa	335,8 ABa	338,3 Aa	337,5 Aa	338,7 Aa	339,2 Aa

Letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

Anexas

Anexo A – Parecer Consubstanciado do CEP

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência do modelo experimental nas alterações superficiais do esmalte dentário após o clareamento dental

Pesquisador: Úrsula Aparecida Escalero Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46540715.4.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.194.229

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma estudo para analisar e comparar as alterações superficiais do esmalte dental humano e bovino, decorrentes do tratamento clareador de consultório, utilizando modelos experimentais in situ e in vitro

Objetivo da Pesquisa:

O presente estudo objetiva avaliar a influência do modelo experimental nas alterações de superfície do esmalte após o clareamento dental com PH a 35% em dentes bovinos e em dentes humanos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os dispositivos intraorais palatinos podem gerar dificuldade na fonação, até adaptação com o dispositivo. Possível inflamação da região palatina por má adaptação do aparelho, que será evitado com um minucioso ajuste realizado pelo operador da pesquisa, porém caso ocorra serão instituídos tratamentos curativos. Deste modo, os procedimentos que serão realizados durante a pesquisa como exame clínico, moldagem e utilização dos dispositivos intraorais palatinos pelos pacientes oferecem mínimo risco a integridade física ou psicológica dos voluntários, não ferindo com sua dignidade, sendo considerados procedimentos seguros e inofensivos a saúde dos participantes dessa pesquisa, sendo assim, essa pesquisa não infringe as normas legais e éticas.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONCA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 1.194.229

Benefícios:

Além dos resultados obtidos com o estudo, o voluntário será beneficiado com tratamento preventivo (limpeza profissional) e curativo, caso este último seja necessário, sob a responsabilidade do autor.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto utiliza métodos adequados para responder às questões estudadas, com mínimo de danos e riscos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/02/2016.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Carta de informação ao voluntário - anexo 2.pdf	09/06/2015 09:23:28		Aceito
Outros	Orientações ao voluntário - anexo 4.pdf	09/06/2015 09:24:12		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto.PDF	09/06/2015 17:04:21		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo de doação.PDF	21/06/2015 20:21:51		Aceito
Outros	WQS.PDF	21/06/2015 20:22:45		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_517813.pdf	21/06/2015 20:57:33		Aceito
TCLE / Termos de	TCLE.pdf	03/08/2015		Aceito

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONCA

CEP: 16.015-050

UF: SP


Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 1.194.229

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	00:44:30		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anexo 5 - Termo de doação - dentes humanos.pdf	03/08/2015 00:49:05		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de Pesquisa.pdf	03/08/2015 00:53:00		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO 517813.pdf	03/08/2015 00:54:15		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO 517813.pdf	24/06/2015 18:03:52		Aceito

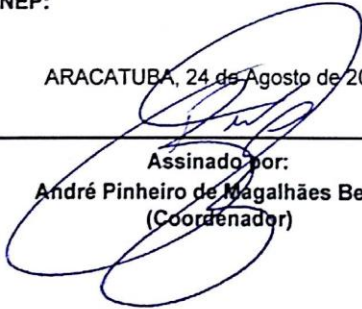
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

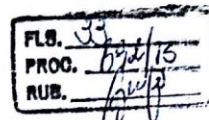
ARACATUBA, 24 de Agosto de 2015


 Assinado por:
 André Pinheiro de Magalhães Bertoz
 (Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
 Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
 UF: SP Município: ARACATUBA
 Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: anacmsn@foa.unesp.br



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "A influência do método experimental nas alterações superficiais do esmalte dentário após o clareamento", Processo FOA nº 2015-00692, sob responsabilidade de André Luiz Fraga Briso apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 05 de Agosto de 2015.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Dezembro de 2016.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Janeiro de 2017.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "The influence of the experimental model in superficial changes on enamel after bleaching", Protocol FOA nº 2015-00692, under the supervision of André Luiz Fraga Briso presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on August 05, 2015.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 30, 2016.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 30, 2017.


Prof. Dra. Maria Gisela Laranjeira
Coordenadora da CEUA
CEUA Coordinator

Anexo B – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: “Influência do modelo experimental nas alterações superficiais do esmalte dentário após o clareamento”

Nome do (a) Pesquisador (a): Úrsula Aparecida Escalero Silva

Nome do (a) Orientador (a): André Luiz Fraga Briso

- 1. Natureza da pesquisa:** o(a) sr.(a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade de avaliar a influência do modelo experimental (“in vitro” e “in situ”) nas alterações de superfície do esmalte após o clareamento dental com peróxido de hidrógeno a 35% em dentes bovinos e em dentes humanos.
- 2. Participantes da pesquisa:** 12 voluntários, adultos jovens (critérios de exclusão: Gestantes ou lactantes, fumantes, voluntários com próteses removíveis, presença de distúrbios de ordem digestiva, presença com atividade de cárie, doença periodontal, fluxo salivar reduzido, uso de aparelhos ortodônticos, doenças sistêmicas, uso de medicamentos que afetam o fluxo salivar, Indisponibilidade de comparecer nas consultas).
- 3. Envolvimento na pesquisa:** Ao participar deste estudo o(a) sr.(a) permitirá que o (a) pesquisador (a) realize o exame clínica e anamnese para inspeção de prováveis problemas sistêmicos ou lesões orais. Comprometendo-se a seguir as instruções de higiene oral, bem como a lista de orientações recebidas e guardar o aparelho no estojo fornecido pelo pesquisador durante as refeições. Lembrando que o aparelho deverá ser utilizado durante todo o experimento. O participante permite a moldagem de sua arcada superior com hidrocolóide irreversível para confecção dos aparelhos intraorais em resina acrílica, estes irão conter discos de origem dental (humana e bovina) devidamente esterilizados e deverão ser utilizado pelos participante de acordo com as orientações recebidas. Em dias previamente agendados o(a) sr.(a) deverá comparecer a clínica para que ocorra o clareamento das amostras. O(a) sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, por qualquer razão, sem prejuízo para o voluntário. Sempre que quiser poderá pedir mais informações

sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

4. **Riscos e desconforto:** A participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. Os dispositivos intraorais palatinos podem gerar dificuldade na fonação, até adaptação com o dispositivo, além de possível inflamação da região palatina por má adaptação do aparelho, que será evitado com um minucioso ajuste realizado pelo operador da pesquisa, porém caso ocorra serão instituídos tratamentos curativos. Deste modo, os procedimentos que serão realizados durante a pesquisa como exame clínico, moldagem e utilização dos dispositivos intraorais palatinos pelos pacientes oferecem mínimo risco a integridade física ou psicológica dos voluntários, não ferindo com sua dignidade, sendo considerados procedimentos seguros e inofensivos à saúde dos participantes dessa pesquisa, ou seja, os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.
5. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente a pesquisadora e seu orientador (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.
6. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa o(a) sr.(a) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo resulte em informações importantes sobre as alterações da superfície do esmalte dental causados pelo clareamento, e a influência do modelo experimental sobre essas alterações, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa fornecer informações mais precisas sobre as alterações do esmalte dental causadas pelo clareamento onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.
7. **Pagamento:** o(a) sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi via deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do Orientador

Pesquisador(a): Úrsula Aparecida Escalero Silva – Telefone: (18) 99103-8013

Orientador(a): André Luiz Fraga Briso – Telefone: (18) 3636-3253

Coordenador(a) do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. André Pinheiro de M. Bertoz

Vice-Coordenador(a): Prof. Dr. Aldiéres Alves Pesqueira

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234

E-mail cep@foa.unesp.br

Anexo C – Carta de orientação aos voluntários



CÂMPUS DE ARAÇATUBA - FACULDADE DE ODONTOLOGIA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ANEXO 3 – Carta de orientação aos voluntários

Orientação aos Voluntários

- Dormir com o aparelho a noite que antecede o período experimental, após a última higiene bucal;
- Utilizar o dispositivo continuamente (24 hs/dia), exceto durante as refeições (3 refeições diárias, totalizando 3 horas);
- Durante a alimentação o dispositivo deverá permanecer no estojo plástico;
- Não ingerir bebidas fora do horário da alimentação, exceto água, (retirar o dispositivo);
- Não ingerir medicamento durante o período experimental;
- A higiene bucal deverá ser realizada normalmente após as refeições, (café da manhã, almoço e jantar), utilizando da escova e dentifrício fornecido pelo pesquisador;
- Retirar o dispositivo na manhã seguinte após o fim do experimento (final do 7 dia após o término do tratamento clareador);
- O voluntário deverá retornar a clínica nos dias marcados, para o clareamento dos blocos de esmalte, nos horários agendados previamente;
- Ao final do experimento (no sétimo dia após o término do tratamento clareador), o aparelho deverá ser guardado no estojo plástico e recoberto com gaze úmida em água, para entrega ao pesquisador;
- Qualquer dúvida entrar em contato com o pesquisador.

Dúvida ligar para: Úrsula Aparecida Escalero Silva (18)99103-8013