

LUCIANA FLORIANI THIVES DE FREITAS SANTOS

**EFEITO DE AGENTES CLAREADORES SOBRE A
SUSCEPTIBILIDADE DO ESMALTE SUBMETIDO A DESAFIOS
EROSIVOS *IN VITRO***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, UNESP - Univ. Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós - Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade em Dentística.

Orientador: Prof. Dra. Alessandra Bühler Borges

São José dos Campos

2012

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges (Orientadora)

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos

UNESP – Univ Estadual Paulista

Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos

UNESP – Univ Estadual Paulista

Profa. Dra. Ana Carolina Magalhães

Faculdade de Odontologia de Bauru

Universidade de São Paulo – USP

São José dos Campos, 6 de fevereiro de 2012.

DEDICATÓRIA

Ao Guilherme, meu filho querido, pela paciência e compreensão nos momentos de ausência.

Ao meu marido Cesar, que me fez sentir que nenhuma meta que me proponha atingir será impossível.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges, pela incansável busca pela excelência no trabalho.

À Profa. Dra. Maria Amélia Máximo de Araujo, pela oportunidade de novas conquistas.

À Profa. Dra. Marcia Carneiro Valera Garakis, pelo carinho e incentivo.

Ao Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres, verdadeiro mestre e conselheiro.

À Profa. Dra. Rebeca Di Nicoló, pela amizade, carinho e acolhimento.

À Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele, pela disponibilidade a todo o momento.

À Profa. Dra. Ana Carolina Magalhães, pelo desprendimento em compartilhar seu conhecimento.

Ao Prof. Ivan Balducci pelo auxílio na análise estatística.

À Carolina Anne Guimarães, por fazer parte desta conquista.

Aos docentes do programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, que contribuíram com seus conhecimentos.

À Rosangela, Fernanda e Josiana, pela presteza e dedicação ao trabalho.

À Silvana Alvarez, pela revisão do trabalho.

À FGM-Produtos Odontológicos, pelo incentivo à pesquisa, disponibilizando o material necessário.

“Cada sonho que você deixa para trás, é um pedaço do seu futuro que deixa de existir.” Steve Jobs

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	07
LISTA DE TABELAS.....	08
RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3 PROPOSIÇÃO.....	39
4 MATERIAL E MÉTODO.....	40
4.1 Delineamento experimental.....	40
4.1.1 Unidades experimentais.....	40
4.1.2 Fatores em estudo.....	40
4.1.3 Variáveis de resposta.....	41
4.2 Obtenção dos dentes e preparo dos espécimes.....	41
4.3 Protocolo de estudo <i>in vitro</i>.....	45
4.3.1 Procedimento clareador e desafio erosivo.....	46
4.3.2 Avaliação da superfície de esmalte.....	47
4.4 Planejamento estatístico.....	48
5 RESULTADOS.....	50
5.1 Resultado da microdureza superficial.....	50
5.2 Resultados do perfil da superfície.....	51
6 DISCUSSÃO.....	55
7 CONCLUSÃO.....	64
8 REFERÊNCIAS.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A - Secção dos dentes; B - Corte de amostras cilíndricas; CD -Padronização da espessura da amostra; E - Politriz circular; FG - Matriz de silicone; H – Espécime; I – Microdurômetro; J – Espécimes estratificados; K - Dispositivo posicionador; L – Perfilômetro	44/45
Figura 2 - Leitura da área calculada no perfilômetro	48
Figura 3 - Gráfico das médias de redução da microdureza.....	51
Figura 4 - Gráfico das médias e desvio-padrão obtidos para os grupos testados após a leitura de três dias	52
Figura 5 - Gráfico das médias e desvio-padrão obtidos para os grupos testados após a leitura de sete dias	53
Figura 6 - Gráfico das médias e desvio-padrão obtidos para os grupos testados após a leitura de quatorze dias	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de média e desvio-padrão \pm (DP) para a redução da microdureza	50
Tabela 2 - Resultado dos dados de microdureza ANOVA (um fator).....	51
Tabela 3 - Dados (μm^2) de média e desvio padrão (\pm DP) dos valores de desgaste após três dias	52
Tabela 4 - Dados (μm^2) de média e desvio padrão (\pm DP) dos valores de desgaste após sete dias	53
Tabela 5 - Dados (μm^2) de média e desvio padrão (\pm DP) dos valores de desgaste após quatorze dias	54

Santos LFTF. Efeito de agentes clareadores sobre a susceptibilidade do esmalte submetido a desafios erosivos *in vitro*. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2012.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de agentes clareadores modificados ou não pela adição de cálcio e flúor, e de uma pasta remineralizante na susceptibilidade do esmalte à erosão. Para o estudo foram usadas amostras cilíndricas de esmalte bovino (3x2 mm), divididas em seis grupos (n=20) de acordo com o tipo de agente clareador utilizado: sem clareamento (C); clareado com gel de peróxido de hidrogênio a 7,5% (PH); clareado com gel de peróxido de hidrogênio a 7,5% seguido da aplicação de pasta remineralizante Nano-P (PH+NanoP); clareado com gel de peróxido de hidrogênio a 7,5% com adição de gluconato de cálcio a 0,5% (PH+Ca); clareado com gel de peróxido de hidrogênio a 7,5% com adição de fluoreto de sódio a 0,2%(PH+F); clareado com gel de peróxido de hidrogênio a 7,5% com adição de cálcio 0,5% e flúor 0,2% (PH+Ca+F). Os géis clareadores foram aplicados na superfície do esmalte por 1h seguido pelo desafio erosivo, composto por quatro ciclos de desmineralização (refrigerante Sprite Zero[®]- 2 min) e remineralização (saliva artificial – 2 h), sob temperatura ambiente. Ao final de cada dia de tratamento clareador mais ciclagem erosiva, os blocos foram imersos em saliva artificial, *overnight*, a 37 °C. O tratamento clareador e ciclagem de pH foram realizados por 14 dias. A alteração da superfície do esmalte foi medida pela microdureza (após 1 dia) e perfilometria (após 3, 7 e 14 dias). Para a microdureza, o teste ANOVA não mostrou diferença significativa entre os grupos (p=0, 0636). Na análise do perfil da superfície, o teste de Kruskal-Wallis indicou diferença significativa entre os grupos (p=0,001) e os resultados do teste de Dunn para os grupos após três dias foram: PH+NanoP (5,83±1,56) a, PH+Ca+F (5,31±2,36) ab, PH+F (4,47±1,16) abc, PH (3,84±1,32) bcd, PH+Ca (3,29±0,91) cd e C (2,56±0,84) d. Após sete dias: PH+NanoP (17,17±5,43) a, PH+Ca+F (15,44±5,05) a, PH+F (13,33±4,22) a, PH (12,57±2,30) ab, PH+Ca (9,48±1,61) bc e C (7,06±2,30) c. Após quatorze dias: PH (30,41±4,50) a, PH+NanoP (28,94±3,41) ab, PH+Ca+F (23,66±3,77) bc, PH+F (21,66±3,41) c, PH+Ca (19,22±2,73) cd e C (14,19±1,86) d. . Conclui-se que o gel de PH a 7,5% modificado ou não por agentes remineralizantes não interferiu na susceptibilidade inicial do esmalte à erosão. Após 7 e 14 dias houve

aumento significativo do desgaste erosivo após o clareamento dental e a adição de cálcio e flúor no gel clareador minimizou o efeito do desafio erosivo sobre o esmalte após 14 dias. A pasta remineralizante não exerceu efeito protetor contra a erosão nos períodos de tempo avaliados.

Palavras-chave: Esmalte. Clareamento Dental. Erosão Dental. Agentes Clareadores.

Santos LFTF. *Effect of bleaching agents on the susceptibility of enamel erosion subjected to in vitro challenges [dissertation].* São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2012.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of bleaching agents modified by the addition of calcium and fluoride, and a remineralizing agent on enamel susceptibility to erosion. Cylindrical samples of bovine enamel (3x2mm) were divided into six groups (n = 20) according to the type of bleaching agent used: without bleaching (C) bleaching with 7.5 % hydrogen peroxide gel (HP), bleached with 7.5% hydrogen peroxide gel followed by the application of a remineralizing agent Nano-P (HP+NanoP), bleached with 7.5% hydrogen peroxide gel with the addition of 0.5% calcium gluconate (HP+Ca), bleached with 7.5% hydrogen peroxide gel with the addition of 0.2% sodium fluoride (HP+F), bleached with 7.5% hydrogen peroxide gel with the addition of 0.5% calcium and 0.2% fluoride (HP+Ca+F). The gels were applied on the enamel surface for 1 h followed by erosive challenge, consisting of four cycles of demineralization (Sprite Zero ® - 2 min) and remineralization (artificial saliva - 2h) at room temperature. At the end of each day's cycling the specimens were immersed in artificial saliva overnight at 37°C. The bleaching treatment and pH cycling were carried out for 14 days. The change of the enamel surface was measured by microhardness (after 1 day) and profilometry (after 3, 7 and 14 days). For the microhardness, the ANOVA showed no significant difference among groups (p=0.0636). In the analysis of the surface profile, the Kruskal-Wallis test indicated a significant difference among groups (p= 0.001) and the results of Dunn's test for the groups after three days were: HP + NanoP (5.83 ± 1.56) a, HP+Ca+F (5.31 ± 2.36) ab, HP+F (4.47 ± 1.16) abc, HP (3.84 ± 1.32) bcd, HP+Ca (3.29 ± 0.91) cd and C (2.56 ± 0.84) d. After seven days: HP +NanoP (17.17 ± 5.43) a, HP+Ca+F (15.44 ± 5.05) a, HP+F (13.33 ± 4.22) a, HP (12.57 ± 2.30) ab, HP+Ca (9.48 ± 1.61) bc and C (7.06 ± 2.30) c. After fourteen days: HP (30.41 ± 4.5) a, HP+NanoP (28.94 ± 3.41) ab, HP+Ca+F(23.66 ± 3.77) bc, HP + F (21.66 ± 3.41) c, HP+Ca (19.22 ± 2.73) cd and C (14.19±1.86) d. It is concluded that the 7.5% HP gel modified or not by remineralizing agents did not affect the initial susceptibility of enamel to erosion. After 7 and 14 days there was significant increase in the erosive wear after tooth whitening and the addition of calcium and fluoride in the bleaching gel minimized the

effect of erosive challenge on enamel after 14 days. The remineralizing agent NanoP did not promote a protective effect against erosion in the evaluated times.

Keywords: Enamel. Tooth Bleaching. Tooth Erosion. Bleaching Agents.

1 INTRODUÇÃO

A erosão dental tem sido definida como um processo químico que envolve a dissolução do esmalte e da dentina por ácidos não derivados de bactérias (Larsen, 1990). Esta perda progressiva de estrutura dental pode ser causada pela ação de ácidos de origem intrínseca ou extrínseca, ambos com potencial de dissolver a superfície dental (Bartlett, 2009, Lussi et al., 2011).

Devido às modificações como o aumento da expectativa de vida e de fatores comportamentais dos indivíduos, resultantes dos hábitos da vida moderna, como alterações na dieta e padrões de consumo da mesma (Lussi et al., 2011), a incidência ou a progressão da erosão dental tem aumentado (Lussi, Schaffner, 2000; Ganss et al., 2001; Dugmore, Rock, 2003; El Aidi et al., 2010; Wang, Lussi, 2010; Huysmans et al., 2011). Desta forma, seu estudo está se tornando cada vez mais importante para a obtenção de uma dentição saudável ao longo dos anos, o que torna necessário a pesquisa por agentes efetivos para seu controle e prevenção (Lussi, 2009).

Inicialmente, a erosão se caracteriza pelo amolecimento da superfície do esmalte e dentina, que em combinação com fatores mecânicos como a abrasão e a atrição, resultam em desgaste acelerado patológico dos dentes. Com a exposição continuada a soluções ácidas, ocorre à perda de estrutura dental, caracterizando o desgaste erosivo, sendo assim a erosão se refere ao processo químico, o qual favorece o desgaste erosivo, sendo que o desgaste patológico

generalizado resultante da erosão pode comprometer a saúde individual dos dentes ou de toda a dentição (Huysmans et al., 2011).

A alteração de cor dos dentes também representa um problema estético bastante freqüente na clínica odontológica, sendo uma consequência do manchamento intrínseco ou extrínseco dos elementos dentais (Hattab et al., 1999).

O tratamento clareador vem sendo empregado há mais de um século (Goldstein et al., 1989; Goldstein, 2000), utilizando substâncias capazes de liberar radicais livres, altamente reativos, que provocam o clareamento pela oxidação dos pigmentos (Torres et al., 2004). Em 1989, Haywood e Heymann descreveram a técnica do clareamento vital, que empregava moldeiras carregadas com o agente clareador peróxido de carbamida a 10%, utilizada pelo paciente em casa durante a noite. A partir de então, o clareamento dental foi popularizado, devido à diminuição do tempo clínico e, conseqüentemente, do custo do tratamento.

O gel de peróxido de carbamida a 10% tem sido tradicionalmente utilizado no período noturno, embora também possa ser usado durante o dia, por tempos menores, como 2 h diárias (Kugel et al., 2007). O peróxido de carbamida se dissocia em peróxido de hidrogênio e uréia. O mecanismo pelo qual esses agentes clareadores agem, baseia-se na ação do peróxido de hidrogênio aplicado diretamente na superfície dental, sendo capaz de se difundir pelo interior do esmalte e da dentina onde libera radicais, altamente reativos, que promovem o clareamento pela oxidação dos pigmentos (Dahl, Pallesen, 2003).

Com a crescente demanda pelo clareamento dental, géis com diferentes concentrações têm sido empregados para o tratamento clareador, contendo peróxido de carbamida ou peróxido de hidrogênio. O gel à base de peróxido de hidrogênio em concentrações

compatíveis com o uso em moldeiras, geralmente de 6 a 7,5%, tem sido indicado para o uso durante o dia, com redução do tempo para cerca de 1h diária.

Embora os estudos tenham comprovado a eficácia de agentes clareadores, os efeitos adversos aos tecidos dentais devem ser cuidadosamente avaliados para que seu uso seja seguro (Papathanasiou et al., 2002; Sulieman et al., 2004; Gottardi et al., 2006). Devido ao contato direto com a superfície dental, deve-se avaliar o efeito dos agentes clareadores nas propriedades físicas e químicas do esmalte (Joiner et al., 2004).

Existem controvérsias sobre o efeito do clareamento dental na composição mineral do esmalte. Assim, diversos estudos laboratoriais observaram a perda de cálcio, bem como redução nas concentrações de cálcio e fósforo no esmalte clareado, levando à redução da microdureza do tecido, embora estas alterações no conteúdo mineral tenham sido consideradas clinicamente insignificantes e reversíveis pela ação remineralizante da saliva com o passar do tempo (McCracken, Haywood, 1996; Rotstein et al., 1996; Cimilli, Pameijer, 2001; Perdigão et al., 1998; Potocnick et al., 2000). Observou-se ainda, maior susceptibilidade à desmineralização por ácidos produzidos por bactérias cariogênicas, o que pode ser decorrente de alterações químicas no esmalte clareado (Flaitz, Hicks, 1996; Potocnick et al., 2000).

Além disso, alguns autores observaram um efeito erosivo dos agentes clareadores propriamente ditos no esmalte (Chen et al., 2008; Ushigome et al., 2009). Desta forma, em pacientes que apresentam risco aumentado à erosão, a realização de um tratamento clareador poderia, eventualmente, influenciar na susceptibilidade à perda de estrutura dentária, quando associada a uma dieta ácida.

Por outro lado, a possibilidade de se promover a remineralização no esmalte clareado ou reduzir o potencial de desmineralização do gel clareador no esmalte têm sido investigados, por meio da adição de agentes com potencial remineralizante, como cálcio e flúor nos géis clareadores, com obtenção de resultados favoráveis (Lewinstein et al., 2004; Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011). Além disso, a aplicação de géis clareadores modificados ou pastas remineralizantes após o procedimento clareador também tem sido estudada (Pinheiro, Cardoso, 2011).

Portanto, o estudo da associação clareamento dental e erosão torna-se importante e não tem sido devidamente relatada na literatura. Logo, os resultados deste estudo podem permitir o estabelecimento de estratégias que minimizem os efeitos adversos do clareamento sobre o esmalte quando associado à exposição a agentes ácidos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Potocnik et al. (2000) estudaram os efeitos do clareamento com peróxido de carbamida (PC) a 10% na camada subsuperficial do esmalte. A microdureza, a microestrutura e o conteúdo mineral foram analisados nas mesmas amostras. Utilizaram seis amostras de dentes humanos, onde o lado clareado e o controle foram obtidos no mesmo dente. O gel clareador PC 10% (pH 6,62) foi aplicado por 336 h e trocado a cada 8 h. A microdureza Vickers foi verificada utilizando um microdurômetro. A microestrutura do esmalte foi avaliada utilizando um microscópio eletrônico de varredura e submetida à microanálise eletrônica para a análise química do cálcio (Ca) e fósforo (P). As concentrações de Ca e P foram analisadas no esmalte dental e no gel clareador depois de utilizado. Os resultados da microdureza não mostraram diferença significativa entre o lado clareado e o controle; para a microestrutura, o lado controle estava uniforme e o lado clareado erodido. Houve um decréscimo de Ca e P na estrutura do esmalte também verificada no gel. Concluíram que o peróxido de carbamida a 10% causou mudanças na microestrutura e no conteúdo mineral do esmalte e embora a microdureza do esmalte com o clareamento fosse pouco afetada, é possível que a erosão no esmalte cervical pudesse ocorrer mais rapidamente e sugeriram que o aumento no número de poros com um maior diâmetro poderia levar a uma maior aderência de bactérias cariogênicas no esmalte clareado por ser mais permeável e, portanto a mais rápida progressão das lesões de cárie.

Amaechi e Higham (2001) tiveram como objetivo verificar a possibilidade de remineralização da erosão inicial do esmalte pela saliva. Para o estudo foram utilizados 20 dentes incisivos bovinos, sendo a erosão em esmalte provocada pela imersão das amostras no suco de laranja (pH 3,85) por 1 h. Foram seccionadas 3 amostras de cada dente e distribuídas em três grupos experimentais de acordo com o agente remineralizante testado: saliva natural (SN), saliva artificial (SA) e solução remineralizante (SR). Para o controle duas camadas de verniz resistente ao ácido foram aplicadas. Todas as soluções tinham pH 7,2 e uma concentração de flúor de 0,022 ppm, que foram trocadas diariamente. A SN foi coletada diariamente, de um mesmo indivíduo e no mesmo horário. A solução remineralizante tinha a mesma composição da saliva artificial, mas sem o metil-p-hidroxibenzoato (conservante) e carboximetilcelulose (espessante). As amostras foram expostas aos agentes remineralizantes por 28 dias. As imagens foram analisadas por microrradiografia e a perda mineral (Δz) e a profundidade da lesão (PL) foram quantificadas. Quantidade significativa ($p < 0,001$) de minerais foi adquirida após a exposição a cada agente remineralizante. Significativamente menos Δz e PL foram observadas nos grupos experimentais comparado ao grupo controle ($p < 0,001$). Este efeito foi maior com SR e menor com a SA. Para comparação entre os grupos o teste de Duncan não mostrou diferença significativa em Δz nos grupos experimentais, entretanto PL foi significativamente maior para SA ($p < 0,001$) comparado com SR e SN e não houve diferença entre SR e SN. Os autores concluíram que a erosão inicial do esmalte pode ser remineralizada pela saliva assim como por agentes remineralizantes.

Burgmaier et al. (2002), avaliaram o efeito do clareamento com peróxido de carbamida (PC) no esmalte incorporado com flúor e a mudança na microdureza do esmalte clareado e fluoretado após a erosão. Foram utilizadas 44 coroas de incisivos bovinos, onde na face vestibular

quatro espécimes de esmalte cilíndricos foram extraídos, embutidos em resina acrílica e polidos, sendo que as quatro amostras retiradas em cada dente foram então distribuídas em quatro grupos com 44 espécimes cada: Grupo A – sem exposição ao clareamento e flúor, utilizado para determinar a concentração de flúor inicial dos respectivos dentes; Grupo B – sem clareamento e com aplicação de 2000 ppm de solução de fluoreto de sódio (NaF) por 2 min; Grupo C- clareado com PC a 10% por 8 h e não fluoretado; Grupo D- clareado com PC a 10% e fluoretado com solução de 2000 ppm de NaF . Para cada regime foram realizados quatro ciclos em dias consecutivos. Em 22 espécimes de cada grupo foi realizada a análise do KOH solúvel e o fluoreto estruturalmente incorporado nos 30 µm mais superficiais do esmalte. Os demais espécimes remanescentes foram induzidos a erosão com 5 ml de ácido cítrico a 1% por 20 min e a microdureza foi verificada antes e depois da erosão. A análise estatística mostrou que o KOH solúvel incorporado no fluoreto foi similar para os grupos B e D. O flúor aderido estruturalmente depois da aplicação do fluoreto de sódio nas amostras não clareadas foi significativamente mais alto que nas clareadas. Somente o clareamento resultou numa perda significativa de flúor. Em todas as amostras erodidas houve perda da microdureza. Este estudo demonstrou que o pré-tratamento do esmalte com PC seguido por fluoretação não melhorou a resistência erosiva. Além disso, o estudo revelou que o tratamento com PC diminuiu a concentração do flúor incorporado no esmalte e que a mesma não pode ser compensada pela aplicação da solução de NaF. Concluíram que o tratamento prévio do esmalte com gel de PC 10% não induziu ao aumento na incorporação de flúor no esmalte ou melhorou a resistência do esmalte a erosão.

Lewinstein et al. (2004) em seu estudo *in vitro* avaliaram diferentes concentrações de agentes clareadores para uso no consultório e para uso caseiro em diferentes tempos de aplicação na dureza do

esmalte e da dentina e o efeito subsequente na imersão em uma baixa concentração de solução fluoretada na dureza do esmalte e da dentina clareados. Amostras de esmalte e dentina foram extraídas de molares humanos e divididas em quatro grupos experimentais (n= 12). O teste inicial da microdureza Knoop (KHN) foi aplicado. As amostras foram estocadas em água destilada por 1 h e a leitura da microdureza foi repetida para o grupo controle (n=48). Os grupos experimentais foram então clareados de acordo com os seguintes grupos: OX e OQ, para tratamento em consultório com Opalescence Xtra (peróxido de hidrogênio 35%) e Opalescence Quick (peróxido de carbamida 35%) respectivamente por 5, 15 e 35 min e o teste de KHN foi realizado no final de cada período. Para o clareamento caseiro foram utilizados os produtos Opalescence F (peróxido de carbamida 15%) e Opalescence (peróxido de carbamida 10%), aplicados por 14 horas (1 h de aplicação), com intervalo de 24h para os grupos OF e O respectivamente, e então verificada a microdureza. Após o tratamento clareador foram imersos em uma solução de 0,05% de fluoreto por 5 min e uma releitura da KHN foi realizada. Uma diminuição na KHN no esmalte e na dentina foi encontrada depois do tratamento clareador para todos os grupos, dependente do tempo do clareamento realizado. No grupo OX houve redução de 25% KHN no esmalte e 22% na dentina depois de 35 min de clareamento. No grupo OQ uma redução da KHN de 13% para o esmalte e 10% para a dentina depois de 35 min. O grupo OF mostrou redução de 14% no esmalte e 9% na dentina após 14 h de clareamento e o grupo O, uma redução de 18% no esmalte e 13% na dentina para o mesmo período. A imersão na solução fluoretada após o clareamento por 5 min restaurou a KHN no esmalte e na dentina para todos os grupos para um valor similar ao controle. Concluíram que a técnica de clareamento em consultório teve uma redução mais significativa da dureza que a técnica caseira e que a baixa concentração de flúor para bochecho restaurou a superfície amolecida dos tecidos duros.

Oliveira et al. (2005), realizaram um estudo *in vitro*, avaliando a microdureza superficial do esmalte, após clareamento com gel de peróxido de carbamida (PC) a 10% com adição de cálcio ou flúor. Foram selecionados 98 blocos de dentes humanos (5x5 mm²) com a superfície do esmalte polido e dividido em 7 grupos experimentais (n=14): (1) sem clareamento e armazenados em saliva artificial (controle); (2) PC 10%; (3) PC 10% + 0,05% cálcio; (4) PC 10% + 0,1% cálcio; (5) PC 10% + 0,2% cálcio; (6) PC 10% + 0,2% flúor e (7) PC 10% + 0,5% flúor. Os espécimes dos grupos foram submetidos ao tratamento clareador uma vez ao dia por 6 h durante 14 dias consecutivos. A microdureza superficial foi mensurada no período inicial, após sete dias, imediatamente após o clareamento (14 dias) e uma semana após o clareamento (21 dias). Os dados analisados mostraram que os tratamentos clareadores alteraram significativamente a microdureza superficial do esmalte após 7 dias, 14 dias e 21 dias, quando comparados aos valores iniciais e aos do grupo controle. Assim os achados deste estudo demonstraram que a despeito da adição de cálcio ou flúor, todos os géis clareadores afetaram a microdureza superficial do esmalte.

Pretty et al. (2005) em seu estudo *in vitro*, tiveram como objetivo avaliar o resultado de várias concentrações do gel clareador peróxido de carbamida (PC) na susceptibilidade do esmalte à erosão e desmineralização e também investigar o efeito na adição de xilitol, fluoreto e potássio ao gel de PC e sua eficácia clareadora. Eles utilizaram 24 incisivos humanos, que foram separados ao meio (cervical e incisal), onde a parte cervical (50%) foi coberta por um verniz e então os grupos foram divididos em quatro (n=6), conforme o tratamento: A- Gel de PC a 10%; B- Gel de PC a 16%; C- Gel de PC a 22%; D- Gel de PC a 10% com xilitol, fluoreto e potássio. Os géis clareadores foram aplicados por 2 h. Cada espécime foi então colocado em uma máquina de escovação e suavemente escovado por 2 min. O total do tempo de exposição ao

agente clareador foi de 40 h dentro de 20 ciclos. A cor dos dentes foi monitorada usando o dispositivo Shade-Eye. Depois do processo clareador o verniz foi removido e o dente foi seccionado em metade mesial e distal e para cada nova amostra foi inserido um código para que os pares pudessem ser comparados mais tarde, assim o verniz foi reaplicado deixando uma pequena janela entre o esmalte clareado e não clareado e também uma marcação foi realizada para identificá-las. Metade dos espécimes foi submetida ao desafio erosivo e a outra metade à desmineralização. No desafio erosivo, os dentes ficaram imersos em ácido clorídrico a 0,1% (pH 2,74) a 37 °C, e removidos a cada 1 h, secados e tiradas imagens QLF e então retornavam a solução, totalizando 14 h de desafio erosivo. Na desmineralização, os dentes foram imersos em uma solução desmineralizante (pH 4,5) a 37 °C. A cada 24 h, os dentes foram removidos, secados e tiradas imagens QLF, num total de 10 dias. Erosão e cárie artificial foram detectadas em todas as amostras, nas áreas clareadas e não clareadas. Não existiu diferença para o tratamento entre os grupos, independente da concentração da solução clareadora. Os resultados sugeriram que o clareamento com gel de peróxido de carbamida não aumentou a susceptibilidade do esmalte à erosão ou à cárie e que a adição de xilitol, fluoreto ou potássio não influenciou na eficácia do gel clareador, comparado ao gel padrão.

Chen et al. (2008), verificaram os efeitos dos agentes clareadores com e sem adição de flúor assim como a utilização do flúor após o tratamento clareador na alteração da microdureza no esmalte bovino. Vinte e cinco incisivos bovinos foram utilizados, as amostras embutidas e divididas em cinco grupos: Grupo 1, sem tratamento (controle); Grupo 2, tratado com gel clareador peróxido de carbamida(PC) 10%; Grupo 3, tratado com PC a 10% seguido da aplicação tópica de flúor 2%; Grupo 4, tratado com PC a 10% contendo fluoreto a 0,11%; Grupo 5, tratado com gel experimental contendo 10% PC e 0,37% de

fluoreto. Os grupos 2-5 foram tratados 8 h por dia por 14 dias e então imersos em saliva por duas semanas. As mudanças no esmalte foram verificadas em 3 aspectos: mudança de cor, microdureza e morfologia da superfície. Depois de duas semanas um padrão de erosão foi notado nos espécimes dos grupos 2 e 3. Sendo nos grupos 4 e 5 um menor padrão de desmineralização. Todos os grupos mostraram mudança na cor tornando-se mais claros. Os grupos 2 e 3 mostraram uma significativa diminuição na microdureza do esmalte comparados com os valores iniciais. Os espécimes tratados com gel clareador contendo flúor mostraram menor redução na microdureza do esmalte, que aqueles que não continham flúor durante o tratamento clareador. Os autores puderam concluir que os agentes clareadores contendo flúor produziram menor desmineralização na superfície e na microdureza e que a adição de flúor não impediu o efeito clareador.

Hara e Zero (2008), analisaram o potencial erosivo de bebidas ácidas contendo cálcio. O estudo testou 10 bebidas, 5 com e 5 sem suplementação de cálcio em duas fases independentes. Na primeira fase o potencial erosivo foi caracterizado baseado nas análises de pH, acidez titulável, concentrações de cálcio (total e iônica), fósforo e flúor. Na segunda fase 110 blocos de esmalte de dentes incisivos bovinos foram divididos em 11 grupos de acordo com as 10 bebidas e solução controle, sendo cada grupo subdividido em seis subgrupos de acordo com o tempo de desmineralização (0, 5, 10, 30, 60, 120 min.) para testar a capacidade dos produtos em causar a erosão em diferentes tempos. O efeito erosivo das bebidas pode ser medido tanto pela técnica da microdureza superficial como perfilometria, sua seleção foi baseada no estágio da progressão da lesão. Dentro das propriedades químicas testadas, o pH, a concentração do íon cálcio e o cálcio total mostraram forte correlação com a desmineralização e o desgaste do esmalte. Os níveis mais baixos de desmineralização e desgaste foram encontrados

nas bebidas com maior conteúdo de cálcio. Este estudo mostrou que o potencial erosivo das bebidas pode ser determinado pela suas propriedades químicas e que a presença do cálcio reduziu o potencial na maioria das bebidas testadas, enquanto o efeito do fósforo e do flúor associados com o cálcio foi menos clara, devendo ser investigada.

Attin et al. (2009-a), tiveram como objetivo verificar se a presença da umidade na superfície erodida do esmalte e da dentina interferia nos resultados da análise com perfilômetro de contato. Foram utilizados dentes bovinos, sendo cinco amostras de esmalte e de dentina com 3 mm de diâmetro inseridas em cerâmica e polidas. As amostras foram estocadas em água por uma semana e então imersas em ácido clorídrico (pH 2,6) por 2 min. Depois, foram removidas da solução, lavadas em água destilada sem secar, colocadas em um adaptador com 1 cm de altura e imersas em água de forma que fosse permitida a leitura perfilométrica. O perfil da superfície foi analisado em três séries. Na primeira série as amostras foram lidas enquanto o adaptador estava preenchido com água. O perfilômetro por contato atravessava a superfície da amostra incluindo a cerâmica, a qual serviu como referência para a profundidade criada pela erosão. Os perfis da superfície foram registrados em diferentes intervalos de tempo, variando de 1 a 181 min. Para a segunda série as mesmas amostras foram utilizadas, contudo a água do adaptador foi removida e as amostras foram cuidadosamente secas com papel absorvente e mantidas em condições ambientais (21°C, 35% umidade do ar), sem ressecá-las ou umedecê-las e novamente lidas nos mesmos intervalos de tempo da primeira série. Para a terceira série as amostras foram deixadas num dessecador por 7 dias e depois colocadas para leitura no perfilômetro com o adaptador preenchido por água. Nesta série as leituras foram feitas nos seguintes momentos (inicial; 0,27; 0,53; 1,2; 4; 8; 24; 48 e 72h). Nas séries 1 e 2 as amostras não foram removidas do perfilômetro durante os intervalos. Na série 3 as amostras

foram removidas depois da primeira hora e nos intervalos, reposicionadas para as próximas leituras. Somente as amostras de dentina foram afetadas pelas condições de armazenamento. Somente foi observada estabilidade nas leituras das amostras de dentina quando estas estavam estocadas em água durante a leitura. Assim, para análise experimental da erosão utilizando perfilômetro de contato, é aconselhável que amostras de dentina sejam armazenadas e medidas em condição úmida.

Bartlett (2009) teve como objetivo em seu trabalho descrever a etiologia e a prevenção da erosão. Relatou que a erosão é um efeito químico da dieta ou de ácidos gástricos no esmalte e na dentina, ao contrário da cárie que é uma condição mediada pela presença de bactérias; sendo a erosão geralmente associada a fatores físicos como a atrição e a abrasão. A aparência clínica da erosão pode ser caracterizada como lesões esburacadas nas superfícies oclusais e nas superfícies lisas como uma mudança no contorno dos dentes. Na sua progressão, as lesões se unem, levando a exposição dentinária e a destruição coronal. Os ácidos presentes na dieta, como em bebidas e frutas potencialmente ácidas podem causar a erosão. Desta forma, hábitos dietéticos envolvendo o consumo freqüente de ácidos, são fatores de risco determinantes para o desenvolvimento e significância clínica da erosão. Sua prevenção com o uso de pastas com flúor, dietas modificadas e produtos com adição de cálcio tem obtido um significativo efeito na redução do seu risco e desenvolvimento.

Borges et al. (2009), investigaram a microdureza superficial e subsuperficial do esmalte em dentes clareados com gel de peróxido de hidrogênio (PH) a 35% com adição de cálcio e flúor. Foram utilizados 20 dentes terceiros molares humanos, seccionados e obtidos fragmentos, que foram polidos para obtenção de uma superfície plana e paralela, fundamental para o teste de microdureza, sendo então divididos em quatro grupos (n=20) de acordo com o tratamento clareador: Grupo 1-

sem clareamento (controle); Grupo 2- PH a 35%; e os Grupos 3 e 4 também foram clareados com PH a 35%, porém modificados pela adição de fluoreto de sódio 0,2% e cloreto de cálcio 0,2%, respectivamente. Os agentes clareadores foram aplicados em uma sessão de 30 min, sendo trocados a cada 10 min. Foi analisada a microdureza Vickers imediatamente após o tratamento clareador. Os resultados da microdureza superficial mostraram que o grupo clareado sem adição de cálcio ou flúor mostrou os valores mais baixos e os mais altos foram para o grupo contendo cálcio. Para análise da microdureza subsuperficial, não existiu diferença significativa entre os grupos para os fatores profundidade e interação. Os autores puderam concluir que o tratamento clareador com PH a 35% reduziu significativamente a microdureza superficial e subsuperficial do esmalte, e a adição de flúor e cálcio no agente clareador aumentou a microdureza do esmalte clareado.

Lussi (2009) relatou que a erosão está se tornando cada vez mais importante para a saúde da dentição em longo prazo, o que torna prevalente a pesquisa por agentes efetivos na prevenção e controle das lesões. Propôs um modelo onde demonstra que uma abordagem global da prevenção da erosão; somente é possível se os diferentes fatores de risco e a forma como interagem forem levados em consideração. Fatores como o biológico, ambiental e químico são os critérios que devem ser o foco da atenção para cumprir esta tarefa. Além disso, os fatores comportamentais também influenciam a erosão, como a frequência e o consumo excessivo de bebidas ácidas na dieta e o abuso do álcool. Hábitos como o consumo de bebidas ácidas antes de dormir e também a sua retenção antes de engolir, aumentam o contato da substância ácida com os dentes, elevando o risco à erosão. Indivíduos conscientes de sua saúde tendem a ingerir sucos freqüentemente, e este hábito quando em adição a higiene bucal, associada a produtos abrasivos pode aumentar o dano ao dente. Alguns autores têm discutido os efeitos

preventivos de formulações de fluoreto na erosão dental e na resistência à abrasão após um ataque erosivo. O papel do fosfato de cálcio também tem sido estudado na prevenção da erosão, podendo atuar de duas maneiras, adicionado a soluções erosivas ou aplicado diretamente na superfície do dente para formar uma camada inibindo a desmineralização. Outras formulações têm sido propostas como a adição de ferro em soluções, que demonstrou uma significativa redução na microdureza da superfície do esmalte e do desgaste da dentina, assim como o hexametáfosfato de sódio tem mostrado fornecer proteção anti-erosiva, bem como a adição de Ca e P numa solução tornando a mesma supersaturada com relação aos minerais do dente, demonstram boa proteção. Entretanto existem limites para este processo. A formação de uma camada protetora composta por íons ou moléculas diferentes é o enfoque mais promissor para futuras pesquisas.

Piangrach et al. (2009), com o objetivo de identificar fatores que poderiam fornecer um efeito protetor contra a erosão, compararam fatores salivares e aspectos comportamentais em participantes de três grupos de idade. Setenta e nove participantes voluntários foram separados em três grupos: 16 a 20 anos (n=25), 26 a 30 anos (n=24) e 46 a 50 anos (n=24). Cada participante tinha pelos menos 20 dentes, não tinha doença sistêmica, nem estava tomando medicamento. Eles classificaram os dentes como não tendo erosão, erosão envolvendo somente esmalte e erosão envolvendo dentina em pelo menos uma superfície. Foram coletadas a saliva não estimulada e estimulada de cada participante e determinado o pH, taxa de fluxo, capacidade tampão, uréia, proteína total e volume necessário para neutralizar o suco de laranja. Também um questionário sobre aspectos comportamentais que poderiam influenciar na erosão, como hábitos alimentares, especialmente os gostos preferidos, bem como hábitos de higiene oral, especialmente a frequência da escovação. Nos resultados, a

ausência da estimulação salivar, a capacidade tampão e a concentração de uréia nas amostras salivares dos participantes entre 16 e 20 anos sem erosão foi significativamente maior que aqueles grupos com erosão em esmalte ($p < 0,05$). Nos participantes com idades entre 26 e 39 anos, na estimulação, o fluxo salivar foi mais alto nos grupos com erosão no esmalte que nos grupos com erosão em dentina ($p < 0,05$). Nos grupos entre 46 e 50 anos, somente na estimulação salivar, o total de proteínas foi significativamente mais alto no grupo com erosão no esmalte ($p < 0,05$). Nos grupos entre 16 e 20 anos e 46 e 50 anos, a erosão pareceu estar relacionada à preferência pelo gosto azedo (ácido) ($p < 0,05$). Não existiu diferença significativa na frequência da escovação entre os participantes sem erosão, daqueles com erosão envolvendo esmalte e com erosão envolvendo dentina. Os autores concluíram que a saliva exerceu alguma proteção contra a erosão, mas que sua eficácia poderia depender da severidade da lesão, da superfície afetada e da idade.

Austin et al. (2010), investigaram o efeito do aumento na concentração de fluoreto de sódio (NaF) em solução aquosa na erosão e atrição do esmalte e da dentina *in vitro*. Para este estudo foram preparadas amostras (5 mm X 3 mm) de terceiro molares humanos livres de cárie. Estas foram inseridas em resina acrílica e polidas com lixas seqüenciais (500, 1200, 2400, 4000). Foram então cobertas com duas tiras de fita adesiva sobre 3 mm X 1mm nas laterais da superfície de esmalte e de dentina, ficando exposta a porção central de 3 mm X 3 mm, sendo que as áreas protegidas foram utilizadas como referência. As amostras foram distribuídas em 10 grupos ($n=10$), sendo utilizados dois protocolos experimentais, atrição e erosão + atrição: G1 (controle - água destilada); G2 (225 ppm NaF); G3 (1450 ppm NaF); G4 (5000 ppm NaF); G5 (19000 ppm NaF). Todas as amostras foram submetidas a 5, 10 e 15 ciclos experimentais (3 dias): 1 ciclo = saliva artificial (2h - pH 7,0) + erosão (0,3% ácido cítrico, pH 3,2 - 5 min) + fluoreto/controle (5 min) +

atrito (1 min - 60 atritos lineares). No final de 5, 10 e 15 ciclos de desgaste experimental a fita foi removida para análise perfilométrica e em seguida reposicionada. Os autores concluíram que quando o aumento do número de ciclos resultou em perda da superfície dentária significativamente maior para esmalte e dentina após a atrição e erosão e para a dentina após a atrição. A atrição e erosão resultaram em uma maior perda de superfície que somente a atrição após 15 ciclos de desgaste experimental no esmalte. As maiores concentrações de NaF resultaram em maior proteção para o esmalte, enquanto nenhum outro grupo demonstrou diferença significativa. Neste estudo concluiu-se que 5000 ppm e 19000 ppm de NaF tiveram um efeito protetor no esmalte *in vitro* para a erosão e atrição, contudo este efeito protetor não foi demonstrado para dentina.

Engle et al. (2010), estudaram o efeito no esmalte e na dentina da interação entre clareamento, erosão e dentifrício abrasivo e os potenciais efeitos do clareamento nas superfícies dos dentes. Foram utilizados espécimes de esmalte e dentina de molares humanos, divididos em oito grupos, os quais passaram por clareamento com peróxido de carbamida a 10%, erosão e dentifrício abrasivo. Os espécimes foram submetidos a ciclos erosivos, escovação e clareamento por cinco dias. O ciclo erosivo-abrasivo consistiu da imersão em ácido cítrico 1% por 2 min, seguido da imersão em saliva artificial por 60 min, então os espécimes foram posicionados numa máquina de escovação e foram escovados por 40 cursos. Para cada espécime foi utilizado 100 ml de suspensão preparada com o dentifrício teste e saliva artificial. Os ciclos foram repetidos três vezes ao dia. Depois de lavados e cuidadosamente secados ficaram imersos em saliva artificial durante a noite, exceto os grupos que passaram pelo tratamento clareador, estes imersos em saliva artificial a 37 °C por 10 h. Os autores determinaram as mudanças na superfície por meio de perfilometria óptica. Os resultados demonstraram

que no esmalte o clareamento não teve significativo efeito sobre a perda de superfície, sendo que as amostras com erosão tiveram maior perda de superfície e o creme dental mais abrasivo levou a uma perda significativamente maior de superfície que o menos abrasivo, sendo que no esmalte nenhuma das interações entre os três fatores foi significativa. Quanto à dentina, a interação entre os três fatores foi significativa, para os espécimes erodidos, sendo que o clareamento levou a uma significativa perda de superfície. Para os espécimes submetidos à erosão e expostos a dentifrícios menos abrasivos, o clareamento levou a menor perda de superfície e naqueles com erosão e expostos a dentifrícios mais abrasivos o clareamento não teve efeito significativo na perda de superfície. Concluíram que o clareamento com peróxido de carbamida a 10% durante a noite não aumentou a susceptibilidade do esmalte ao desgaste erosivo e abrasivo, independentemente do dentifrício usado. Para a dentina o desgaste foi modulado pela interação entre os 3 fatores.

Field et al. (2010) fizeram uma revisão com o objetivo de expor os métodos mais comumente utilizados para a análise da perda de superfície e mudanças na superfície dos tecidos duros dentais *in vitro*. Uma pesquisa inicial foi realizada utilizando resumos e citações com as palavras “dental” e “erosão” ou “abrasão” e “alteração de superfície” ou “perda de superfície” e “*in vitro*” (1975-2009), resultando em 69 artigos que foram revisados e os métodos criticamente avaliados. O material bibliográfico foi utilizado a fim de encontrar outras fontes apropriadas. Ficou claro que as mudanças na superfície dental são um processo complexo e podem ser medidas de diversas maneiras. Nenhuma técnica forneceu uma avaliação abrangente da superfície residual dos dentes, e cada técnica teve suas limitações. O que também foi claro é que a maneira que a mudança de superfície foi relatada para cada uma das técnicas, resultou em pouca informação acerca de como a superfície poderia mudar num futuro imediato. Concluíram que a despeito da

variedade de testes disponíveis *in vitro* para medir a alteração da superfície, a média da rugosidade (R_a) é a principal medida relatada nos estudos. Usando o mesmo conjunto de dados, a perfilometria permite que adicionalmente, os parâmetros de área sejam mais significativos permitindo uma descrição da qualidade da superfície.

Cavalli et al. (2011), tiveram como objetivo verificar se a adição de flúor (F) e cálcio (Ca) no agente clareador de uso caseiro peróxido de carbamida (PC) a 10%, reduzem a perda mineral da superfície e subsuperfície do esmalte. Sessenta amostras de esmalte humano foram selecionadas baseadas na sua microdureza ($n=10$) e submetidas à aplicação dos agentes: placebo – PLA (pH 6,9), Whiteness™ - PC (pH 6,8), Opalescence™ - OPA (pH 7,3), Pola Night™ PN (pH 6,4) e outros dois grupos experimentais de peróxido de carbamida; com adição de 0,2 % de F – PCF (pH 6,8) e com adição de 0,2% Ca - PCCa (pH 6,5). Os géis foram aplicados por 6 h/dia por 14 dias. As amostras foram analisadas com espectroscopia FT-Raman para verificação do conteúdo mineral da superfície antes e depois de 14 dias. A microdureza e a microscopia de luz polarizada também foram realizadas, para avaliação da perda do esmalte subsuperficial e a profundidade da lesão. Uma significativa diminuição do conteúdo mineral foi observada após o tratamento no grupo PC, que resultou num aumento da profundidade da lesão ($p<0,05$). Nas avaliações da microdureza e no microscópio de luz polarizada foram observados para todos os grupos (exceto o placebo) redução do conteúdo mineral na subsuperfície do esmalte; entretanto esta perda pode ser efetivamente controlada pela adição de F e Ca nos agentes clareadores experimentais. A adição de Ca e F nos agentes clareadores de uso caseiro foi capaz de minimizar os efeitos adversos do PC na desmineralização da superfície e subsuperfície do esmalte, assim como a progressão da profundidade da lesão, *in vitro*.

Huysmans et al. (2011) discutiram os potenciais métodos de investigação da erosão e do desgaste erosivo *in vivo* e as dificuldades associadas com os estudos clínicos. Definiram a erosão como uma desmineralização parcial do esmalte ou dentina por ácidos extrínsecos ou intrínsecos, o desgaste erosivo como uma perda acelerada do tecido dental duro em combinação com o efeito da erosão e o desgaste mecânico como a abrasão e a atrição na superfície do dente. Muitos estudos verificaram que durante a última década houve um aumento significativo na prevalência e na severidade do desgaste dental erosivo, principalmente em adolescentes. Segundos os autores mesmo quando o desgaste ocorrer na sua menor forma será motivo de preocupação, pois poderá comprometer a integridade de uma dentição saudável na vida adulta. O desgaste erosivo é um processo complexo e modificado por fatores químicos e comportamentais em associação com processos que ocorrem dentro da boca. Relataram ainda que pelo fato das intervenções estarem sendo desenvolvidas, torna-se importante que os métodos *in vivo* sejam desenvolvidos para avaliar os resultados dos processos da erosão e desgaste erosivo sobre eles. Concluíram em seu estudo que ensaios clínicos envolvendo pacientes com pequeno desgaste erosivo poderiam ser viáveis com o sistema de pontuação existente, mas exigiria vários anos de reavaliação. Uma alternativa seria avaliar a erosão dental (alteração da superfície) para o estudo, mas sua validade seria um problema. Ensaios clínicos envolvendo pacientes com erosão agressiva têm sido realizados, mas os resultados podem não ser adequados para reportar a outras populações. É necessário que métodos de avaliação clínica sejam desenvolvidos e validados para a verificação da erosão e do desgaste erosivo *in vivo*. Novas tecnologias de diagnóstico podem fornecer soluções para este desafio, mas requerem ainda uma quantidade significativa de aperfeiçoamento.

Lussi et al. (2011) realizaram uma revisão com ênfase nos aspectos químicos e histopatológicos da erosão dental. Citaram a erosão como um transtorno que envolve as propriedades características do dente, a fisiologia da saliva, as fontes extrínsecas e intrínsecas ácidas e hábitos que poderiam contribuir para o seu desenvolvimento, sendo que todos estes fatores deveriam ser considerados cuidadosamente. O grau de saturação da solução que envolve o dente, determinado pelo pH e as concentrações de cálcio e fosfato, são fatores influentes na dissolução do tecido duro dental. Em relação à cárie, com as concentrações de cálcio e fosfato no fluido da placa, o pH crítico abaixo do qual o esmalte se dissolve é cerca de 5,5. Para a erosão, o pH crítico é menor nos produtos (ex. iogurte) que contenham mais cálcio e fosfato que no fluido da placa e maior quando as concentrações são mais baixas. A erosão dental começa por um amolecimento da superfície do esmalte, seguido por perda de volume com uma camada ainda amolecida na superfície do tecido remanescente. A erosão na dentina não está claramente compreendida, assim mais estudos *in vivo*, incluindo aspectos histopatológicos são necessários. Estudos clínicos mostraram que as exposições aos ácidos combinada com insuficiente fluxo salivar resultaram em aumento da dissolução. O efeito destas e outras interações resultaram em uma troca íon/substrato e reorganização no interior da estrutura dentária ou na sua interface, alterando assim sua força e estrutura. O estágio e a severidade da erosão são determinados pela susceptibilidade do tecido dental para dissolução. Devido ao esmalte conter menos minerais solúveis que a dentina, ele tende a apresentar uma erosão mais lenta.

Pinheiro e Cardoso (2011) avaliaram a influência da adição de cálcio e fosfato em agentes clareadores de uso caseiro, comparando com agentes convencionais (com nitrato de potássio e flúor adicionados), na microdureza Knoop (KHN) e ultramorfologia do esmalte e da dentina em dentes humanos. Cinco coroas de molares intactos foram

usados para análise ultraestrutural e cinco para o teste de KHN. Cada coroa foi cortada em fatias. Foi realizada a análise inicial de KHN no esmalte e na dentina, e então as fatias foram divididas em seis grupos experimentais e um controle (n=5): G1 = peróxido de carbamida (PC) a 15 % + nitrato de potássio + F (pH 6,4)/ 4h; G2 = PC 16 % + nitrato de potássio + F (pH 5,9)/ 4h; G3 = nitrato de potássio + F + Ca + PO₄ (fosfato de cálcio amorfo – ACP), (pH 6,9)/30 min; G4 = PC 16% + nitrato de potássio + Ca + PO₄ (pH5,3)/4 h; G5 = peróxido de hidrogênio (PH) 7,5% + nitrato de potássio + Ca + PO₄ (pH 8,8)/ 1 h; G6 = PH 7,5% + nitrato de potássio + F + Ca (pH 6,2)/ 1 h. Após cada sessão/dia de tratamento os espécimes foram guardados em água destilada até a próxima sessão. Os produtos foram aplicados por duas semanas de acordo com as instruções dos fabricantes. A microdureza após o tratamento foi determinada. Nos agentes clareadores convencionais (G1; G2; G6) houve diminuição da microdureza (p<0,05). O uso do ACP nos agentes clareadores com Ca e PO₄ (G3; G4; G5) não alteraram a microdureza. Mudança na morfologia foi observada na superfície do esmalte e da dentina no G1; G2; G5. Os resultados indicaram que o gel com adição de cálcio e fosfato não mudou a dureza superficial do esmalte e da dentina e não mudou a morfologia dentária e os que não tiveram a adição de agentes remineralizantes na sua formulação mostraram diminuição da dureza superficial do esmalte e dentina, assim como mudanças morfológicas na estrutura dentária.

Schlueter et al. (2011), fizeram uma revisão sobre as vantagens, limitações e possíveis aplicações dos métodos disponíveis para o estudo da erosão no esmalte e na dentina. Enfatizaram que por apresentarem diferenças histológicas, o esmalte e a dentina são afetados de forma diferente pelo processo erosivo, sendo que a escolha do método para avaliar a erosão depende do tecido de interesse, do estágio da lesão e das mudanças esperadas na estrutura da lesão erosiva durante o estudo. Os fatores que determinam a aplicação do método são: a

condição da superfície do espécime, tipo de modelo experimental, natureza da lesão, necessidade de medidas repetidas ao longo do tempo e tipo de resultado. Os métodos mais adequados e comumente usados para análise da erosão inicial são a análise química da perda de mineral e a dureza superficial do esmalte. A erosão avançada tem sido melhor investigada por perfilometria de superfície e microradiografia. As mudanças morfológicas do tecido dental erodido têm sido usualmente estudadas pela microscopia eletrônica de varredura. As aplicações e limitações dos métodos têm sido determinadas por experiências, por isso os métodos tradicionais são bem conhecidos e validados. Novos métodos têm sido usados, mas pouco se sabe do seu potencial e suas limitações, portanto existe a necessidade de consolidação e validação desses novos métodos.

Shellis et al. (2011) mediante discussão ocorrida em encontro sobre metodologia na pesquisa da erosão (Zurich, 2010), ofereceram um guia para o desenvolvimento e aplicação de modelos *in vitro* e *in situ* para pesquisa da erosão. As perspectivas para os ensaios clínicos também foram discutidas. Apresentaram modelos incluindo aspectos gerais como a escolha do substrato, preparação dos espécimes, tratamento ácido, métodos de avaliação, bem como as possibilidades aplicáveis de acordo com a escolha do modelo de pesquisa. Entre os modelos *in vitro*, podemos avaliar o potencial erosivo de algum produto, enquanto modelos cíclicos de pH podem ser usados para simular a erosão *in vivo*. Entretanto os modelos *in vitro* fornecem informações limitadas sobre a erosão intra-oral. Os modelos *in situ* permitem que o desafio erosivo possa ser avaliado na cavidade oral e são atualmente os métodos de escolha para testes de curto prazo com produtos menos erosivos ou produtos para prevenção e sugerem que no futuro, ensaios clínicos permitirão testes em longo prazo.

Sun et al. (2011) tiveram como proposta neste estudo, avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio (PH) 30%, ácido e neutro em solução no esmalte humano na sua estrutura química, propriedades mecânicas, morfologia de superfície e cor. Vinte e sete amostras de dente humano foram obtidas de pré-molares e aleatoriamente divididas em três grupos (n= 9): grupo ácido PH (30% PH; pH≈ 3,6); grupo neutro PH (30 % PH; pH≈ 7,0) e grupo DW (água destilada; pH≈ 6,8). Os espécimes ficaram imersos em 4 ml de solução por 4 h. A reflexão total atenuada - Fourier por espectroscopia infravermelha (ATR-FTIR), espectroscopia Raman, microscópio de investigação da força atômica (AFM), teste de microdureza e a medida da cor foram realizados antes e depois dos tratamentos. ATR-FTIR e espectroscopia Raman foram analisadas e então a razão carbonato: mineral (C: M), intensidade absoluta Raman (RAI), intensidade relativa Raman (RRI), e o laser-induzido por intensidade fluorescente (FI) foram obtidos. Nos resultados o C: M, porcentagem de microdureza e porcentagem de RRI do grupo ácido PH diminuiu mais significativamente que para o grupo neutro PH e o grupo DW, enquanto o grupo neutro PH e o DW não tiveram diferença significativa nestas análises. Alterações morfológicas significantes foram observadas no grupo ácido PH. Os grupos ácido PH e neutro PH não tiveram diferença significativa nas porcentagens de FI e ΔE . O estudo sugeriu que o PH 30 % neutro foi eficiente no clareamento dental e causou menos efeitos deletérios no esmalte dental que o PH 30% ácido, sendo que o PH neutro poderia ser recomendado para o clareamento reduzindo danos a estrutura dental.

Tschoppe et al. (2011) avaliaram num estudo *in vitro* o efeito das pastas dentais com nano-hidroxiapatita (n-HAp) na remineralização do esmalte bovino e em lesões de dentina subsuperficiais. Uma pasta com amino fluoreto foi utilizada como referência por razões comparativas. Foram utilizados 70 espécimes de

esmalte de dentes bovinos retirados da superfície vestibular dos incisivos e 85 espécimes de dentina retirados da região cervical. Um quarto de cada espécime foi revestido com um verniz resistente ao ácido para o controle. Os espécimes foram desmineralizados e divididos aleatoriamente em cinco grupos (esmalte n=14; dentina n=17) e expostos a uma solução aquosa remineralizante por duas e cinco semanas. Os procedimentos de escovação foram realizados manualmente com uma escova macia e com o mínimo de pressão, com a respectiva pasta dental/estocagem na solução duas vezes por dia (2X5 s com um tempo total de contato de 2X120 s/dia): somente em solução remineralizante (O); escovação adicional com 20 % de carbonato de zinco ($ZnCO_3$) + n-HAp (B); 24 % $ZnCO_3$ + n-HAp (BS); 0,14 % de amino fluoreto (E) ou 7 % n-HAp puro (A). Diferenças na perda mineral ($\Delta\Delta Z$) antes e após a estocagem/tratamento foram avaliadas microrradiograficamente. Para os grupos de dentina O; B; BS e A mostraram valores $\Delta\Delta Z$ significativamente maiores comparados ao grupo E ($p < 0,05$; ANOVA). Valores $\Delta\Delta Z$ no esmalte do grupo A foram significativamente maiores comparados ao grupo E ($p > 0,05$); enquanto não puderam ser observadas diferenças significativas destes grupos comparados aos O; B e BS ($p > 0,05$). De acordo com as condições *in vitro* escolhidas, as pastas dentais contendo n-HAp revelaram um efeito maior na remineralização comparado às pastas com amino fluoreto em dentina bovina e valores semelhantes obtidos para o esmalte.

Young e Tenuta (2011) realizaram uma revisão da literatura e propuseram uma metodologia como protocolo para o estudo da erosão inicial. Descreveram a erosão inicial como a primeira mudança na superfície dentária causada pela exposição em curto prazo de ácidos antes de qualquer perda de tecido ser observada e tem sido estudada usando protocolos *in vitro* e *in situ/in vivo*. Em seu trabalho demonstraram os eventos que poderiam ser considerados como modelos para a erosão

inicial, os protocolos viáveis e suas limitações. Citaram que os modelos de erosão *in vitro* poderiam fornecer informações relevantes sobre o resultado erosivo. Entretanto, os estudos publicados variaram consideravelmente em relação aos parâmetros usados, e pouco destes estudos tem sido validados. Por outro lado, relevantes estudos *in situ/in vivo* estão disponíveis e estudaram os efeitos da película adquirida na prevenção da erosão inicial, bem como as mudanças no pH salivar seguido pela exposição a soluções ácidas. Devido à grande variabilidade e falta de validação encontrada na revisão realizada, que dificulta a comparação entre os estudos, a relevância clínica e que conclusões possam ser tiradas, sugeriram um guia para os modelos de estudo da erosão inicial. Concluíram que os primeiros efeitos prejudiciais das soluções ácidas nos dentes, as mudanças que ocorrem na película salivar, assim como a eficácia das medidas preventivas para o tratamento de pacientes poderiam ser estudadas usando modelos adequados, com protocolos de estudo padronizados. Desta forma, resultados dos estudos *in vitro* e *in situ* da erosão inicial poderiam ser melhor validados e extrapolados para a situação clínica, comparando aos resultados de um estudo *in vivo*.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de agentes clareadores com peróxido de hidrogênio a 7,5%, modificados ou não pela adição de cálcio e flúor, ou seguido da aplicação de pasta remineralizante sobre a susceptibilidade do esmalte à erosão.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Delineamento experimental

4.1.1 Unidades experimentais

Foram utilizadas 120 amostras de esmalte bovino.

4.1.2 Fatores em estudo

Agente clareador em seis níveis:

- a) sem clareamento;
- b) clareado com gel de peróxido de hidrogênio (PH) a 7,5%;
- c) clareado com gel de PH a 7,5% seguido pela aplicação do agente dessensibilizante e remineralizante (Dessensibilize Nano-P – nano-hidroxiapatita 10%, fluoreto de sódio 0,2%, nitrato de potássio 2%);
- d) clareado com gel de PH a 7,5% com adição de gluconato de cálcio a 0,5%;
- e) clareado com gel de PH a 7,5% com adição de fluoreto de sódio a 0,2%;

- f) clareado com gel de PH a 7,5% com adição de gluconato de cálcio a 0,5% e fluoreto de sódio a 0,2%.

4.1.3 Variáveis de resposta

Microdureza superficial Knoop.

Desgaste erosivo medido por perfilometria.

4.2 Obtenção dos dentes e preparo dos espécimes

Foram utilizados dentes incisivos bovinos recém-extraídos, obtidos de animais com idade média de 3 anos. Os dentes foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e posteriormente armazenados em solução de timol a 0,1%, pH 7,0 durante todo o período de preparo dos espécimes de esmalte.

Os dentes foram seccionados transversalmente ao seu longo eixo, abaixo da junção amelo-cementária para remoção das raízes, utilizando um disco diamantado acoplado a um torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, Brasil) e um disco diamantado Diaflex-F (Wilcos do Brasil, Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ), sendo feita uma secção na porção cervical dos dentes (Figura 1A). As polpas dentais foram extirpadas utilizando limas endodônticas e a câmara pulpar foi irrigada constantemente com água deionizada para remoção de detritos.

As coroas dentais foram fixadas em uma base posicionadora para permitir o corte de amostras cilíndricas de esmalte-dentina, com 3 mm de diâmetro a partir da superfície vestibular utilizando

uma broca trefina revestida por diamante por meio de um equipamento para corte circular de amostras (Figura 1B).

Para padronizar a espessura da dentina, as amostras foram posicionadas em um dispositivo metálico que possuía um orifício central com tamanho ligeiramente maior do que o espécime e um parafuso que permitia a determinação da profundidade, ajustado em 2,1 mm, em um paquímetro digital (Starret, Itu, SP, Brasil), (Figura 1CD).

Os espécimes foram posicionados neste dispositivo com o esmalte voltado para baixo. Sendo assim, toda a dentina remanescente permaneceu para fora do orifício e foi desgastada com uma lixa de carbeto de silício de granulação 1200 (FEPA-P; Struers, Ballerup, Denmark), acoplada a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 1E).

Na seqüência, os espécimes foram inseridos em uma matriz de silicone com 6 mm de diâmetro e 3,1 mm de profundidade. No fundo da matriz havia uma cavidade em um segundo nível com 3 mm de diâmetro e 0,1 mm de profundidade. Na lateral da matriz havia uma projeção em forma de linha curva produzindo um sulco lateral no espécime para auxiliar o correto posicionamento da amostra durante a leitura do perfil. Os espécimes foram posicionados no interior desta cavidade interna com a superfície do esmalte voltada para o fundo do molde (Figura 1FG). O molde foi então preenchido com resina composta de baixa viscosidade (Opallis Flow, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) e fotopolimerizada por 40 s.

Os espécimes foram posicionados em outro dispositivo de metal (30,4 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), com um orifício central (6 mm de diâmetro), cuja profundidade foi ajustada em 3 mm. A amostra foi posicionada com a face de esmalte voltada para a superfície externa do dispositivo, com o intuito de realizar a planificação e polimento do esmalte. O conjunto (disco/dente) foi posicionado sobre a plataforma giratória da politriz para realizar a planificação do esmalte, permitindo o

paralelismo entre as superfícies polidas e a base de metal no qual foram fixados os espécimes. Para tal, foram utilizadas lixas de carbetto de silício de granulação 2400 e 4000, sob refrigeração com água durante 30 s.

Entre as trocas de lixas, os espécimes foram levados em ultra-som (Ultrasonic Cleaner, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil), durante 5 min, com água deionizada (200 ml), a fim de remover resíduos de grãos de abrasivo que poderiam interferir na lisura do tecido. Após o último polimento, os espécimes retornaram ao ultra-som, durante 5 minutos para a limpeza final (Figura 1H).

A superfície do esmalte das amostras foi analisada em estereomicroscópio (Carl Zeiss – Stemi 2000 -20X), e as que apresentaram trincas e imperfeições foram descartadas.

Foram determinados os valores de microdureza inicial do esmalte por meio de um microdurômetro (FM-700, Future-Tech, Tóquio, Japão), munido com um penetrador Knoop, utilizando-se carga de 25g aplicada por 10 s. Foram realizadas três endentações nos espécimes, com distância de 100 μm entre elas, e obtido um valor médio (Figura 1I). Os espécimes foram estratificados entre os grupos com base nos valores médios de microdureza obtidos (Figura 1J).

Após, foram realizadas duas marcações nas laterais da superfície da resina composta de baixa viscosidade, utilizando uma lâmina de bisturi, como guias para orientação do reposicionamento dos gráficos resultantes das leituras dos perfis obtidos. Os espécimes foram inseridos em um dispositivo posicionador de forma a padronizar a posição dos mesmos durante as leituras realizadas (Figura 1K).

Foram então medidos os perfis iniciais da superfície de esmalte dos espécimes utilizando um perfilômetro (MaxSurf XCR, Mahr – Goettingen, Alemanha), sendo realizadas três varreduras com extensão de 4,20 mm a uma distância de 0,25 mm cada e obtido um valor médio (Figura 1L).

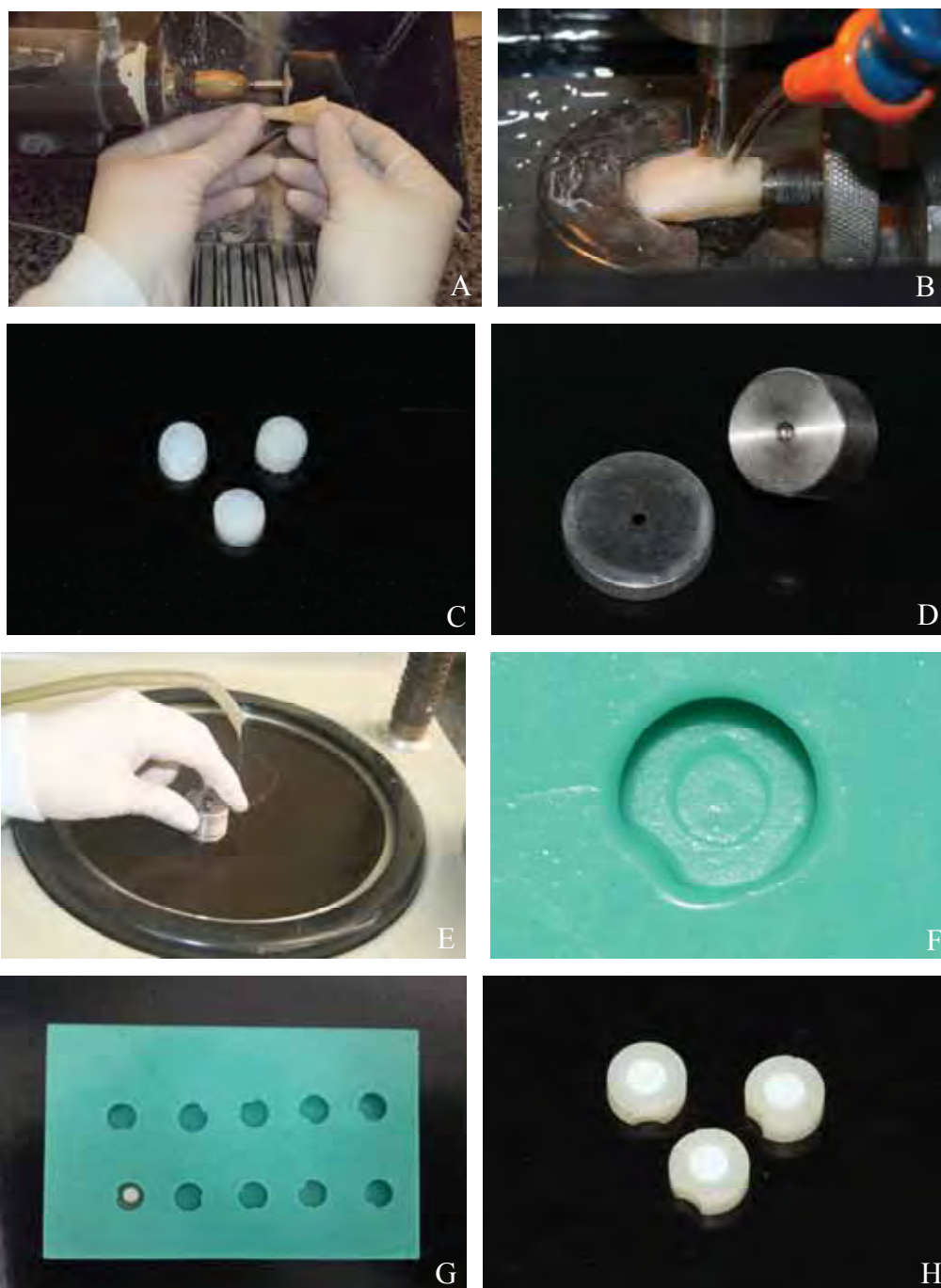


Figura 1- A - Secção dos dentes; B - Corte de amostras cilíndricas; CD -Padronização da espessura da amostra; E - Politriz circular; FG - Matriz de silicone; H – Espécime

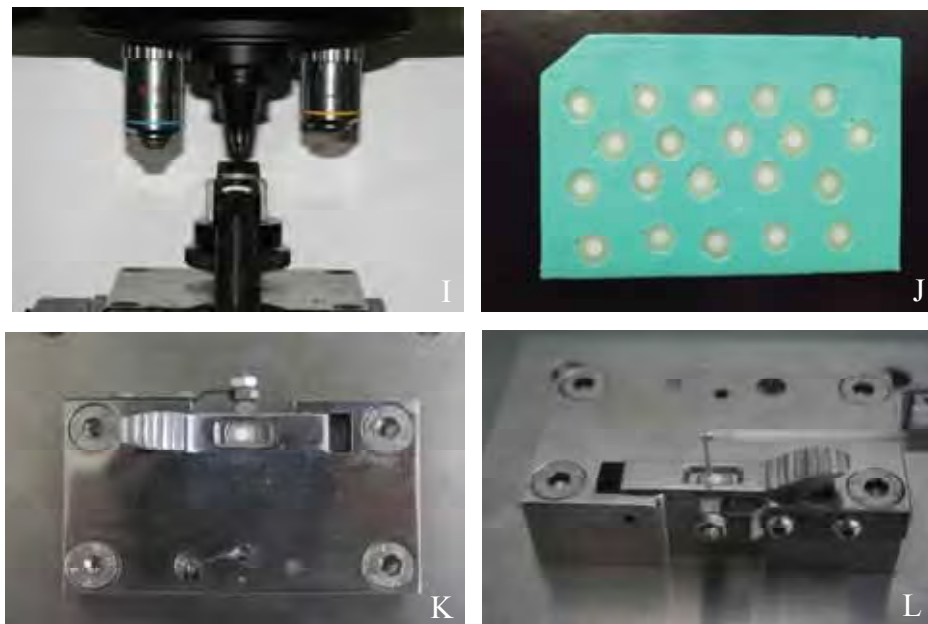


Figura 1 - I – Microdurômetro; J – Espécimes estratificados; K - Dispositivo posicionador; L – Perfilômetro.

4.3 Protocolo de estudo *in vitro*

Foram utilizados 120 espécimes de esmalte bovino, distribuídos em seis grupos (n=20) descritos abaixo, de acordo com o tipo de agente clareador utilizado:

- a) grupo C- Sem clareamento (controle);
- b) grupo PH- Tratado com o gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 7,5% (pH 5,62);
- c) grupo PH+NanoP- Tratado com gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 7,5% seguido pela aplicação do agente dessensibilizante e remineralizante Dessensibilize Nano-P (FGM Produtos Odontológicos) (pH 8,60);

- d) grupo PH+Ca- Tratado com gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 7,5% com adição de gluconato de cálcio a 0,5% (pH 5,60);
- e) grupo PH+F- Tratado com gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 7,5% com adição de fluoreto de sódio a 0,2% (pH 5,65);
- f) grupo PH+Ca+F- Tratado com gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 7,5% com adição de gluconato de cálcio a 0,5% e fluoreto de sódio a 0,2% (pH 5,66).

Os agentes clareadores citados acima foram desenvolvidos pela empresa de materiais odontológicos FGM (Joinville, SC, Brasil). O pH dos agentes foi medido utilizando um pHmetro (Digimed DM-20 –Digicrom Analítica Ltda., São Paulo, SP, Brasil), munido com um eletrodo (Digimed DME- CV8), que foi calibrado utilizando soluções com pH 4.01 e 6.86.

4.3.1 Procedimento clareador e desafio erosivo

Os géis clareadores foram levados à superfície do esmalte através de uma seringa acoplada com agulha hipodérmica, e foi depositada sobre a superfície do esmalte uma camada de aproximadamente 2 mm de gel clareador, a qual permaneceu em contato com os espécimes por um período de 1 h. Decorrido este período, o gel foi removido por meio de uma cânula de sucção ligada a uma bomba a vácuo (Nevoni, São Paulo, SP, Brasil) e os espécimes foram lavados em água deionizada (20s) e imersos em saliva artificial (pH 6,8) por 2 h.

Para o grupo PH+NanoP, após a remoção do gel clareador, o agente Dessensibilize Nano-P, foi aplicado sobre a superfície do esmalte e friccionado por 1 min com um micro aplicador descartável (Cavibrush- FGM Prod. Odontológicos), deixando por mais 5 min sobre o espécime, então foi removido o excesso da superfície com bolinha de algodão e os espécimes foram depositados em saliva artificial (2 h).

Após este período, iniciou-se o desafio erosivo, no qual os espécimes foram submetidos à ciclagem de pH, utilizando o refrigerante Sprite Zero® (The Coca-Cola Company® - pH 2,6), em um volume de 10 ml por espécime, quatro vezes ao dia durante 2 min cada. Após cada desmineralização, os espécimes foram lavados em água deionizada (20 s) e transferidos para recipientes plásticos individuais contendo 10 ml de saliva artificial por espécime por 2 h. Após o último desafio erosivo, as amostras foram armazenadas em saliva artificial durante todo período noturno (Magalhães et al., 2007).

A seqüência de aplicação do gel clareador e desafio erosivo foram repetidos diariamente por 14 dias. A saliva artificial que foi utilizada durante todo experimento teve a seguinte composição (Göhring et al., 2004): carbonato de hidrogênio (22,1 mmol/l), potássio (16,1 mmol/l), sódio (14,5 mmol/l), hidrogeno fosfato (2,6 mmol/l), ácido bórico (0,8 mmol/l), cálcio (0,7 mmol/l), tiocianato (0,4 mmol/l) e magnésio (0,2 mmol/l) em pH 6,8.

4.3.2 Avaliação da superfície de esmalte

Depois do primeiro dia de clareamento e ciclo erosivo, foi realizada nova leitura da microdureza da superfície de esmalte, seguindo as mesmas especificações descritas anteriormente.

Os perfis das superfícies do esmalte foram novamente medidos com o perfilômetro após 3, 7 e 14 dias da ciclagem erosiva. Para

tal, os espécimes eram inseridos no dispositivo metálico que permitia o reposicionamento exato dos mesmos para comparação das leituras nos diferentes tempos.

As três leituras obtidas nos períodos iniciais e após 3, 7 e 14 dias de tratamento clareador e ciclagem erosiva foram superpostas e a área resultante da diferença entre as mesmas, que determinavam a perda de estrutura dental foi calculada utilizando-se o software fornecido pelo fabricante do equipamento (Mar Surf XCR 20 4.50-07 SP3).

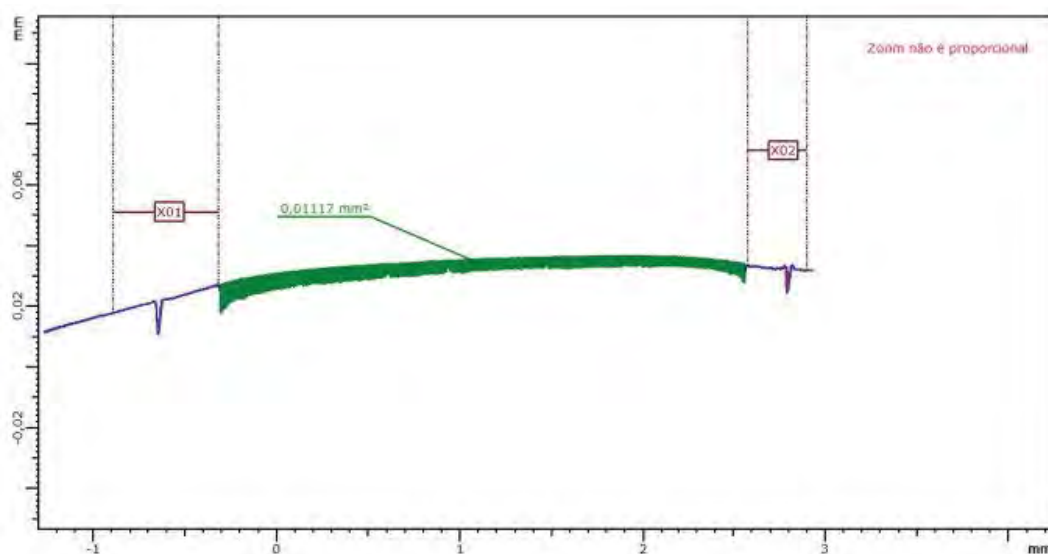


Figura 2 - Leitura da área calculada no perfilômetro.

4.4 Planejamento Estatístico

Segundo a proposta do estudo, as hipóteses nulas formuladas foram:

- a) H_{01} - O tratamento clareador antes do desafio erosivo não altera a microdureza superficial do esmalte dental comparada com a exposição do esmalte apenas ao desafio erosivo;

- b) H₀₂ – A utilização de agentes remineralizantes adicionados ao gel clareador ou aplicados após o tratamento clareador não influencia a microdureza superficial do esmalte dental após o desafio erosivo;
- c) H₀₃ - O tratamento clareador não aumenta a susceptibilidade do esmalte ao desgaste erosivo;
- d) H₀₄ - Não há influência na susceptibilidade do esmalte tratado com agente clareador suplementado ou não com cálcio e flúor ou seguido da aplicação de pasta remineralizante à erosão.

Os dados de microdureza foram tabulados em planilhas de Excel e a Análise de Variância (ANOVA um fator) foi aplicada para comparação dos grupos.

Os dados referentes ao desgaste da superfície de esmalte para cada espécime (μm^2) foram tabulados em planilhas de Excel e para análise foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn para a comparação entre os diferentes agentes clareadores em relação à susceptibilidade do esmalte à erosão (perfil).

Para os cálculos foram empregados os softwares Statistica for Windows (Statsoft) e Statistix (Analytical Software). O nível de significância utilizado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Resultado da microdureza superficial

Os dados de média e desvio-padrão obtidos para os diferentes grupos analisados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Dados de média e desvio-padrão \pm (DP) para redução da microdureza

Grupos	Média	\pm DP
C	138,90	48,07
PH+Ca+F	134,98	52,73
PH	131,01	55,96
PH+Ca	130,12	44,00
PH+F	125,64	48,03
PH+NanoP	112,49	48,46

O gráfico das médias de redução da microdureza após os tratamentos testados estão apresentadas na Figura 3, onde se podem observar valores semelhantes para os grupos.

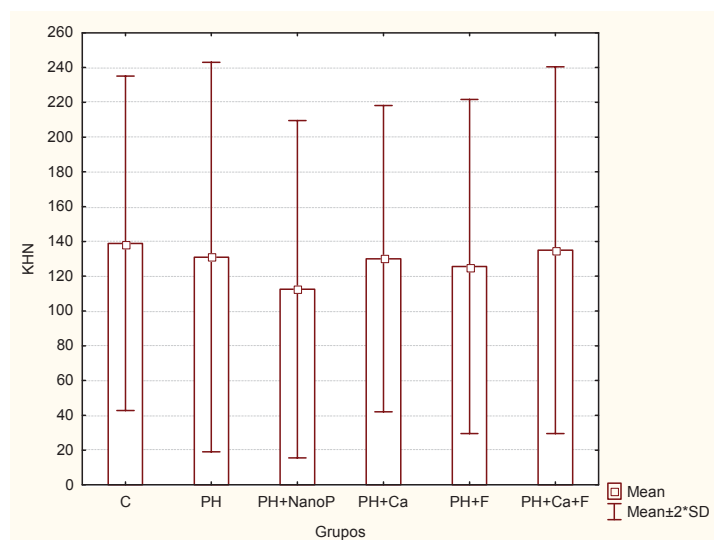


Figura 3 - Gráfico das médias de redução da microdureza.

Para comparação entre os grupos, foi aplicado o teste Análise de Variância (ANOVA um fator), onde não foi observada diferença significativa ($p= 0,0636034$), conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultado dos dados de microdureza ANOVA (um fator)

	SS	Degr.	MS	F	p*
Grupos	8453	5	1691	0,06846	0,0636034
Erro	281517	114	2469		

* $p < 0,05$

5.2 Resultados do perfil da superfície

Os dados de desgaste da superfície de esmalte após três, sete e quatorze dias de procedimento clareador e desafio erosivo foram analisados separadamente, por meio do teste de Kruskal-Wallis que constatou diferença significativa entre os grupos ($p=0,00001$).

O teste de Dunn foi então aplicado e mostrou que para o tempo de três dias o grupo controle sem clareamento apresentou menor

desgaste em relação aos grupos PH+F, PH+Ca+F e PH+NanoP, assim como o grupo PH+Ca apresentou um menor desgaste significativamente em relação ao grupos PH+Ca+F e PH+NanoP. Os demais grupos não diferiram entre si, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Dados (μm^2) de média e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) dos valores de desgaste após três dias

Grupos	Média	DP	Grupos Homogêneos*			
PH+NanoP	5,83	1,56	A			
PH+Ca+F	5,31	2,36	A	B		
PH+F	4,47	1,16	A	B	C	
PH	3,84	1,32		B	C	D
PH+Ca	3,29	0,91			C	D
C	2,56	0,84				D

* $p < 0,05$

O gráfico das médias para os grupos de três dias após os tratamentos testados está apresentado na Figura 4, onde se pode observar o desempenho obtido para os grupos.

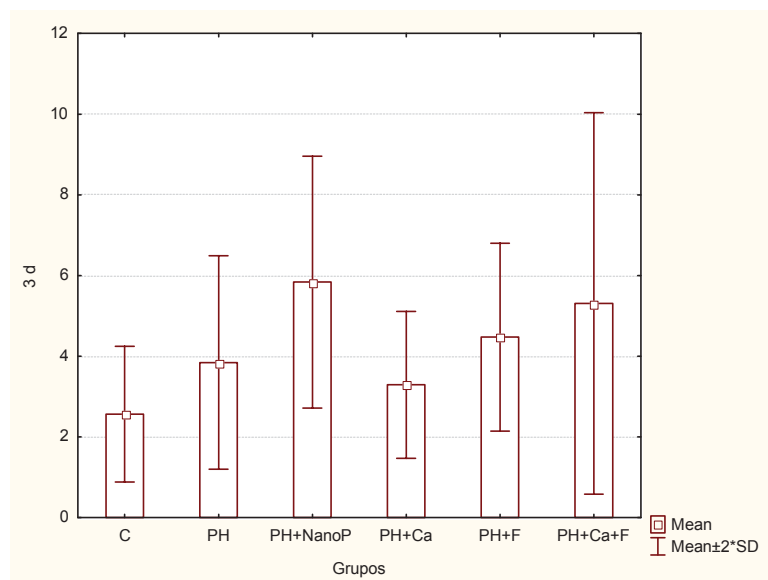


Figura 4 - Gráfico das médias e desvio-padrão obtidos para os grupos testados após a leitura de três dias

Quando foi considerado o tempo de sete dias de procedimento clareador e processo erosivo, o grupo controle sem

clareamento apresentou desgaste erosivo significativamente menor em relação aos grupos PH, PH+F, PH+Ca+F e PH+NanoP. O grupo PH+Ca apresentou médias de desgaste similares aos grupos PH e C. Os demais grupos não demonstraram diferença significativa, conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 - Dados (μm^2) de média e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) dos valores de desgaste após sete dias

Grupos	Média	DP	Grupos Homogêneos*		
PH+Nano P	17,17	5,43	A		
PH+Ca+F	15,44	5,05	A		
PH+F	13,33	4,22	A		
PH	12,57	2,30	A	B	
PH+Ca	9,48	1,61		B	C
C	7,06	2,30			C

* $p < 0,05$

O gráfico das médias para os dados obtidos com a leitura de sete dias após os tratamentos testados estão apresentadas na Figura 5, onde se pode observar o desempenho obtido pelos diferentes grupos.

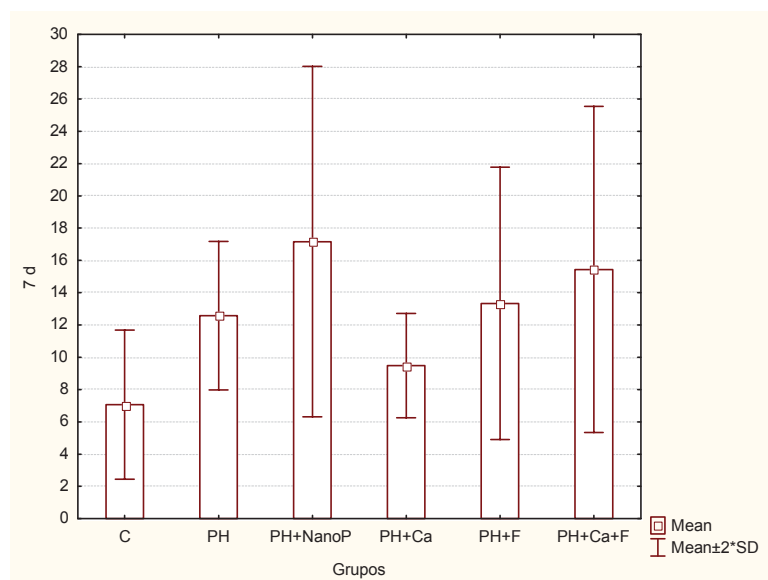


Figura 5 - Gráfico das médias e desvio-padrão obtidos para os grupos testados após a leitura de sete dias.

Com relação aos dados obtidos com a leitura realizada após quatorze dias, o grupo C apresentou um desgaste significativamente menor que todos os outros grupos, com exceção do grupo PH+Ca. O grupo PH apresentou valores de desgaste similares ao grupo PH+NanoP e significativamente maiores do que todos os outros grupos testados, conforme evidenciado na Tabela 5.

Tabela 5 - Dados (μm^2) de média e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) dos valores de desgaste após quatorze dias

Grupos	Média	DP	Grupos Homogêneos*			
PH	30,41	4,50	A			
PH+NanoP	28,94	3,41	A	B		
PH+Ca+F	23,66	3,77		B	C	
PH+F	21,66	3,41			C	
PH+Ca	19,22	2,73			C	D
C	14,19	1,86				D

*p<0, 05

O gráfico das médias para os grupos de quatorze dias após os tratamentos testados está apresentado na Figura 6, onde se pode ver o desempenho obtido para os diferentes grupos.

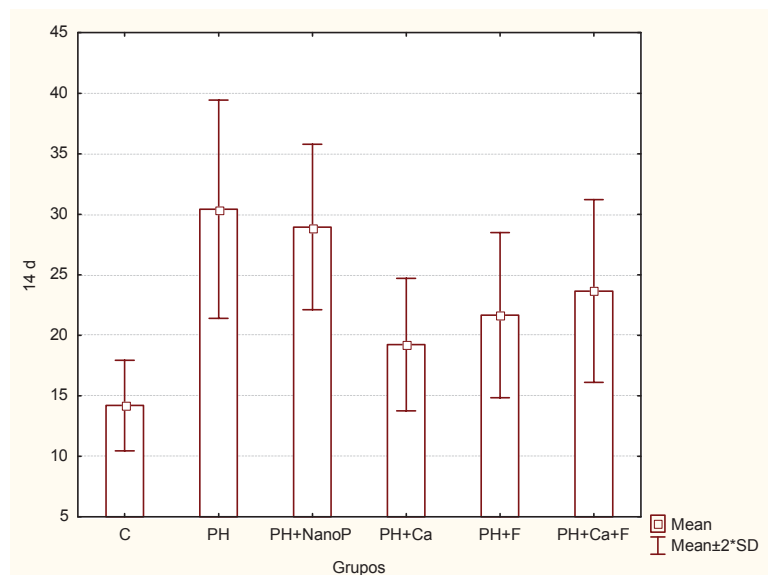


Figura 6 - Gráfico das médias e desvio-padrão obtidos para os grupos testados após a leitura de quatorze dias.

6 DISCUSSÃO

A erosão dental é causada pelo contato freqüente da estrutura dental com ácidos de origem intrínseca ou extrínseca. O processo inicial da erosão é caracterizado pelo amolecimento da superfície do esmalte. Durante esta fase, o processo é considerado reversível, pois não há perda do arcabouço mineral do esmalte, permitindo a remineralização pela saliva (Amaechi, Higham, 2001). A exposição continuada a soluções ácidas resulta na progressiva desmineralização da superfície do esmalte, provocando sua dissolução e aumentando a susceptibilidade do mesmo à abrasão, resultando em perda irreversível do tecido (Schlueter et al., 2011).

Os efeitos iniciais de agentes erosivos no tecido dental podem ser medidos por meio da microdureza superficial do esmalte, sendo este método capaz de mensurar a resistência do substrato à penetração de uma endentação (Barbour, Rees, 2004). Dentre os penetradores, acredita-se que a ponta de diamante Knoop seja mais sensível para detectar as mudanças na camada mais superficial de uma lesão erosiva, pois sua profundidade de penetração é de cerca de 1,5 μm (Featherstone, 1992; Schlueter et al., 2011). Com o decorrer do desafio erosivo esta camada amolecida superficial atinge um estado estacionário ou é removida, tornando-se inadequado este método de avaliação (Schlueter et al., 2011; Shellis et al., 2011). Desta forma, no presente estudo, foi realizada a mensuração da microdureza superficial antes dos tratamentos testados, para estratificação das amostras e após o primeiro dia do desafio erosivo associado aos tratamentos clareadores, totalizando oito minutos de exposição à solução ácida.

Nos estágios mais avançados da erosão, ocorre à perda de estrutura dental e nesta fase, a perfilometria se torna mais adequada

como método de quantificação da lesão (Barbour, Rees, 2004; Schlueter et al., 2011). Neste estudo utilizou-se a perfilometria por contato para avaliação do desgaste erosivo obtido após três, sete e quatorze dias de desafio erosivo, sendo este método o mais frequentemente utilizado para avaliar as perdas superficiais das estruturas dentais (Field et al., 2010). A ponta diamantada apalpava a superfície, tendo como referência a resina composta que foi utilizada para embutimento. As leituras obtidas antes e após os tratamentos testados eram sobrepostas, utilizando como guia a marcação delimitada pela lâmina de bisturi durante o preparo dos espécimes, permitindo a subtração das imagens, obtendo-se a área total referente ao desgaste dental. No entanto, esta análise só foi possível porque os espécimes puderam ser reposicionados exatamente no mesmo local em todas as leituras. De fato, Attin et al. (2009-a) enfatizaram a importância do reposicionamento das amostras para mensurações repetidas, bem como de um software apropriado para realizar as análises.

Optou-se pelo uso de substrato bovino devido à maior facilidade para obtenção e padronização das amostras. Além disso, a maior área de superfície dos dentes bovinos facilita sua manipulação e os procedimentos de preparo dos espécimes. Embora existam diferenças entre o substrato humano e bovino, o conteúdo de cálcio por peso é semelhante (36,8% e 37,9%, respectivamente), sendo a distribuição de cálcio mais homogênea no esmalte bovino comparado com o esmalte humano (Davidson et al., 1973). Observou-se que a relação Ca/P do esmalte humano e bovino em estudos de desmineralização e remineralização foi afetada de forma semelhante para os dois substratos (Feagin et al., 1969). No entanto, o esmalte bovino apresenta uma susceptibilidade ligeiramente maior ao desgaste do que o humano quando submetido ao desafio erosivo (Attin et al., 2007). Desta forma, dentes bovinos têm sido amplamente utilizados em estudos de erosão, resultando em dados válidos e aceitáveis, embora a extrapolação dos

resultados para a realidade clínica deva ser realizada com critério (Laurance-Young et al., 2011).

Os efeitos adversos resultantes da aplicação de agentes clareadores no esmalte dental têm sido objeto de investigação em diversos estudos, tendo sido relatada perda de cálcio e queda dos valores de microdureza do esmalte após a exposição a agentes clareadores (McCracken, Haywood, 1996; Rotstein et al., 1996; Pinto et al., 2009; Pinheiro, Cardoso, 2011). O decréscimo na microdureza do esmalte é uma consequência da perda mineral, sendo a desmineralização um processo patológico preocupante para os profissionais e pesquisadores (Ren et al., 2009). No entanto, deve-se considerar os fatores que podem interferir na ação dos géis clareadores sobre a composição do esmalte dental, como a concentração, o pH e o tempo de exposição (Suliman et al., 2004; Ushigome et al., 2009; Borges et al., 2010; Sun et al., 2011). Além disso, a ação remineralizante da saliva tende a reduzir os efeitos deletérios do tratamento clareador sobre o esmalte dental (Attin et al., 2009-b; Smidt et al. 2011).

Embora controversa, a possível perda mineral resultante da ação de agentes clareadores sobre o esmalte poderia, eventualmente, contribuir para a etiologia da cárie e erosão dental (Ren et al., 2009). Assim, a possibilidade de ocorrerem alterações químicas, estruturais e mecânicas resultantes da ação dos agentes clareadores sobre o esmalte dental tem motivado a realização de estudos sobre a associação do tratamento clareador à susceptibilidade à erosão dental. Além disso, foi ainda observado previamente que agentes clareadores podem exercer um efeito erosivo sobre a superfície do esmalte dental (Chen et al., 2008; Ushigome et al., 2009).

No presente trabalho, foram avaliados os efeitos do clareamento dental associado a desafios erosivos na microdureza e desgaste superficial do esmalte após diferentes períodos de tempo. Observou-se que a aplicação do gel à base de PH a 7,5% associado ao

desafio erosivo de um dia (correspondente a 8 min de exposição à solução ácida) não apresentou diferença significativa comparada ao grupo que sofreu o desafio erosivo sem exposição ao agente clareador, por meio da análise de microdureza superficial, portanto, a primeira hipótese de nulidade proposta foi aceita.

Com a continuação da associação clareamento/erosão por três dias, observou-se ainda que ambos os grupos controle não clareado e grupo clareado com PH a 7,5% apresentaram valores semelhantes de desgaste superficial, medido por meio de perfilometria. Engle et al., 2010 também não observaram um efeito exacerbado do clareamento dental sobre a perda de esmalte superficial decorrente do desafio erosivo por cinco dias. No entanto, estes autores utilizaram o peróxido de carbamida a 10% associado ao desafio erosivo seguido de abrasão por escovação. Em outro estudo, Pretty et al., 2005 realizaram a exposição do esmalte a géis de peróxido de carbamida em diferentes concentrações por 40 h, seguida pela imersão dos espécimes em solução ácida por até 14 h e não observaram aumento da susceptibilidade do esmalte clareado à erosão dental.

Os valores de desgaste do esmalte obtidos após sete e quatorze dias de experimento revelaram que, nestes momentos, houve significativamente maior desgaste no grupo clareado com PH a 7,5% do que no grupo não clareado, rejeitando-se a terceira hipótese de nulidade para estes períodos de avaliação. Assim, pode-se especular que com a progressão da associação clareamento/desafio erosivo, os agentes clareadores passam a exercer um efeito cumulativo sobre a superfície do esmalte, o que pode interferir de forma significativa na conseqüente perda mineral decorrente da exposição às soluções ácidas.

A ação oxidativa decorrente da aplicação de peróxido de hidrogênio na estrutura dental ocorre pela ação dos radicais livres gerados pela decomposição do peróxido e esta reação é não-específica, portanto, existe ação não somente sobre os pigmentos presentes no

dente, mas também sobre a estrutura orgânica dos tecidos (Hegedüs et al., 1999). Pelo fato do pequeno conteúdo orgânico do esmalte atuar sobre a integridade deste tecido, estas alterações podem resultar, conseqüentemente, em alterações também sobre seu conteúdo mineral (Jiang et al., 2008).

O peróxido de hidrogênio penetra no interior do esmalte principalmente por entre suas proteínas (amelogenina e enamelinina), pois os cristais de hidroxiapatita exibem uma estrutura muito mais compacta. A ação do oxigênio nascente resultante da decomposição do peróxido de hidrogênio sobre as estruturas do esmalte pode resultar em aumento da porosidade deste tecido (Hegedüs et al., 1999), o que facilitaria a ação erosiva de soluções ácidas.

Alguns autores relataram que alterações superficiais significantes estão associadas mais ao pH dos géis clareadores do que à sua ação oxidativa (Suliman et al., 2004; Borges et al., 2010). Entretanto, embora o pH dos géis clareadores testados neste estudo estivesse em torno de 5,6 não houve alteração significativa da microdureza superficial e do desgaste erosivo após um e três dias respectivamente. Não foi o objetivo deste estudo investigar o efeito do gel clareador sobre a microdureza do esmalte. Desta forma, mesmo que tenha ocorrido algum efeito erosivo do agente clareador propriamente dito sobre o esmalte superficial, este não foi capaz de exacerbar a desmineralização resultante da ação do refrigerante ácido utilizado no desafio erosivo nos períodos iniciais testados (um e três dias).

Agentes como o flúor e o cálcio, têm sido adicionados aos géis clareadores visando reduzir a solubilidade do esmalte, promover sua remineralização e também como tentativa de se reduzir a sensibilidade dental (Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011). Estudos têm mostrado que durante o tratamento clareador o esmalte perde íons cálcio e fosfato e flúor para o meio bucal (McCracken, Haywood, 1996; Rotstein et al., 1996; Pinto et al., 2009; Pinheiro, Cardoso, 2011). A presença de altas

concentrações destes agentes remineralizantes nos géis clareadores pode promover a incorporação dos mesmos no esmalte desmineralizado (Cavalli et al., 2011).

Além disso, o efeito protetor destes agentes com potencial remineralizante contra a ação erosiva promovida por ácidos no esmalte também têm sido pesquisada (Austin et al., 2010; Wegehaupt, Attin, 2010). A erosão dental atinge a superfície do dente e, portanto, a aplicação tópica de agentes fluoretados tem sido amplamente investigada visando promover a remineralização e aumentar a resistência à abrasão do tecido amolecido (Wiegand, Attin, 2003).

Neste estudo, a adição de diferentes associações de agentes remineralizantes com o gel clareador PH a 7,5% não promoveu efeito protetor contra o desafio ácido inicial, medido por microdureza após um dia. Portanto, a segunda hipótese de nulidade foi aceita.

O mecanismo de remineralização promovido pelos fluoretos já é bem estabelecido. A ação tópica do fluoreto de sódio inclui a formação de uma camada de fluoreto de cálcio sobre a superfície dental, que possui função protetora (Magalhães et al., 2011). O flúor pode ainda ser incorporado diretamente na forma de fluorapatita sobre a superfície do esmalte atacada por ácidos (Fan et al., 2009). Neste estudo, a adição de fluoreto de sódio ao agente clareador não promoveu um efeito protetor contra a erosão em nenhum dos períodos de tempo testados. De fato, a eficácia dos fluoretos na redução do desgaste erosivo tem sido questionada na literatura (Wiegand, Attin, 2003; Amaechi, Higham, 2005). No entanto, após 14 dias de associação clareamento/desafio erosivo, houve significativamente menor desgaste do grupo clareado com PH a 7,5% suplementado por flúor comparado ao grupo clareado com PH a 7,5% sem suplementação. Sabe-se que a adição de flúor nos géis não reduz sua eficácia clareadora, sendo sua adição benéfica não apenas na redução da microdureza superficial decorrente da própria ação do agente clareador sobre o esmalte (Chen et al., 2008; Borges et al., 2011), como

também na redução da perda mineral decorrente da associação clareamento/erosão.

Visando aumentar o potencial remineralizante de agentes preventivos à base de fluoretos, o cálcio tem sido adicionado aos mesmos. É necessário que haja íons cálcio disponíveis para combinação com o flúor, sendo esta disponibilidade um fator limitante para que ocorra a remineralização (Reynolds et al., 2008). Neste estudo, a associação do fluoreto de sódio com o gluconato de cálcio no gel clareador não proporcionou um efeito protetor contra a erosão dental. No entanto, após 14 dias houve perda mineral significativamente menor no grupo PH+Ca+F do que no grupo clareado com PH. Por outro lado, a associação entre o cálcio e o flúor resultou em valores de perda mineral significativamente maiores do que o grupo PH+Ca. Possivelmente, houve uma reação prematura entre estes íons no frasco do gel, reduzindo sua efetividade. De fato, a combinação de flúor com o cálcio é problemática e pode resultar em redução do flúor disponível devido à reação com o cálcio. Assim, a reação dos íons flúor com o cálcio deveria ser evitada até que os mesmos sejam aplicados no esmalte, para se melhorar a eficácia da ação remineralizante (Sullivan et al., 2001).

Por outro lado, nas amostras clareadas com agente clareador suplementado com cálcio, observou-se uma redução nos valores de desgaste superficial em todos os períodos de tempo avaliados comparados com o grupo clareado apenas com PH a 7,5%. No entanto, apenas após 14 dias houve diferença significativa. Embora íons cálcio e fosfato, necessários para o processo de remineralização, estejam naturalmente presentes na saliva, a presença de cálcio no gel clareador visa atuar como uma fonte suplementar destes íons no meio bucal. Portanto, o gel contendo cálcio possivelmente foi capaz de manter a saturação de íons cálcio do dente, reduzindo sua perda durante o desafio ácido. Tem-se especulado que a ação de compostos de cálcio envolve a remineralização pelo depósito de íons cálcio no interior dos cristais de

esmalte parcialmente desmineralizados (Tantbirojn et al., 2008; Ranjitkar et al., 2009). De fato, nos processos erosivos, a estrutura dental é provavelmente reparada pela deposição de minerais no interior da zona porosa (Eisenburger et al., 2001). Isto levaria à suposição de que a ação protetora do cálcio somente seria efetiva após a ocorrência da erosão (Wegehaupt, Attin, 2010).

O uso de soluções ou pastas remineralizantes à base de nano-hidroxiapatita também tem sido investigado visando tanto o restabelecimento do conteúdo mineral do esmalte clareado (Kim et al., 2011) como a prevenção do desgaste erosivo (Li et al., 2008; Min et al., 2011) e remineralização de lesões de cárie iniciais (Huang et al., 2009; Tschoppe et al., 2011).

A pasta à base de nano-hidroxiapatita testada neste estudo é experimental, composta por nanopartículas de hidroxiapatita, fluoreto de sódio e nitrato de potássio. Dentre suas aplicações, este produto foi desenvolvido para agir na prevenção da desmineralização pela liberação de cálcio, fosfato e flúor ao meio bucal. A hidroxiapatita possui biocompatibilidade e homogeneidade química com a estrutura dental, no entanto, compostos à base de hidroxiapatita exibem baixa solubilidade (Min et al., 2011). Porém, devido ao seu pequeno tamanho produzido pela nanotecnologia, os compostos nano-estruturados tendem a apresentar um comportamento químico, físico e biológico potencializado, por possuírem maior área superficial, capacidade de hidratação, molhabilidade e solubilidade (FGM- Prod. Odontológicos) *

Foi demonstrado que a nano-hidroxiapatita é capaz de penetrar nos poros de esmalte e agir como um padrão para que haja o processo de precipitação e atração de íons cálcio e fosfato de uma solução remineralizante, com a finalidade de preencher as porosidades presentes nos cristais de esmalte (Huang et al., 2009).

*FGM Produtos Odontológicos. Desensibilize Nano P. Perfil técnico. 2011 dez. Disponível em: <http://www.fgm.ind.br/site/produtos.php?prd=13&lng=pt>

Apesar disso, no presente estudo não foi observada ação protetora da pasta remineralizante contendo nano-hidroxiapatita com relação ao desgaste erosivo, nem redução da susceptibilidade do esmalte clareado à erosão para o grupo PH+NanoP. Na erosão inicial, medida por microdureza após 1 dia de associação clareamento/desafio erosivo, o grupo PH+NanoP apresentou os menores valores na redução da dureza, embora não tenha ocorrido diferença significativa. Portanto, a pasta pode exibir uma ação remineralizante, que levaria à proteção contra agentes erosivos, conforme demonstrado previamente (Li et al., 2008; Min et al., 2011), mas a associação erosão/abrasão, presente em apenas este grupo, pode ter exacerbado o desgaste erosivo medido por perfilometria durante os períodos testados.

Assim, a hipótese de nulidade proposta sobre a ausência de influência dos agentes remineralizantes sobre a susceptibilidade à erosão dos espécimes clareados e submetidos ao desafio erosivo foi rejeitada para todos os grupos e aceita para o grupo PH+NanoP após 14 dias de experimento. No entanto, deve-se ressaltar que este é um estudo *in vitro*, no qual foi utilizada saliva artificial, não foi considerado o possível efeito protetor da película adquirida, que ocorre clinicamente (Hara et al., 2006; Wiegand et al., 2008). Desta forma, a extrapolação dos resultados para a realidade clínica deve ser criteriosamente realizada.

7 CONCLUSÃO

Considerando as limitações deste estudo, pode-se concluir que:

- a) O clareamento com peróxido de hidrogênio a 7,5%, modificado ou não por agentes remineralizantes não interferiu na susceptibilidade à erosão inicial do esmalte dental;
- b) A ação do agente clareador associada ao desafio erosivo durante três dias não aumenta a susceptibilidade do esmalte ao desgaste erosivo;
- c) Após sete e quatorze dias, o tratamento clareador com peróxido de hidrogênio a 7,5% aumentou a susceptibilidade do esmalte à erosão;
- d) Após quatorze dias, a adição de cálcio e flúor ao agente clareador minimizou o efeito erosivo sobre o esmalte dental clareado;
- e) A utilização de pasta remineralizante com nano-hidroxiapatita após a aplicação do gel clareador não minimizou o desgaste erosivo dos espécimes clareados.

8 REFERÊNCIAS*

Amaechi BT, Higham SM. *In vitro* remineralization of eroded enamel lesions by saliva. J Dent. 2001 Jul;29(5):371-6.

Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. J Dent. 2005 Mar;33(3):243-52. Epub 2004 Nov 26.

Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A. The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: erosion-abrasion experiments. J Dent. 2007 Oct;35(10):773-7. Epub 2007 Aug 20.

Attin T, Becker K, Ross M, Attin R, Paqué F. Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. Clin Oral Investig. 2009-a Dec; 13(4):473-8. Epub 2009 Feb 13.

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

Austin RS, Rodriguez JM, Dunne S, Moazzez R, Bartlett DW. The effect of increasing sodium fluoride concentrations on erosion and attrition of enamel and dentine in vitro. J Dent. 2010 Oct;38(10):782-7. Epub 2010 Jun 30.

*Baseado em:

International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Medical journals: Sample References [homepage na internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.] Disponível em: [HTTP://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent.* 2004 Nov;32(8):591-602.

Bartlett D. Etiology and prevention of acid erosion. *Compendium.* 2009 Nov/Dec;30(9):616-20.

Borges AB, Samezima LY, Fonseca LP, YUI KCK, Borges ALS, Torres CRG. Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Oper Dent.* 2009;34(5):593-97

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

Borges AB, Dantas RLM, Torres CRG, Caneppele TMF, Borges ALS, Pucci CR. Effect of remineralizing agents on the efficacy of bleaching gels (abstract) In: IADR/AADR/CADR General Session and Exhibition, 2011, San Diego. *Journal of Dental Research.* 2011;90:2034.

Burgmaier GM, Schulze IM, Attin T. Fluoride uptake and development of artificial erosions in bleached and fluoridated enamel *in vitro*. *J Oral Rehabil.* 2002;29(9):799-804.

Cavalli V, Rodrigues LKA, Paes-Leme AF, Soares LES, Martin AA, Berger SP et al. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomedicine and Laser Surgery.* 2011;29(5):319-25.

Chen HP, Chang CH, LIU JK, Chuang SF, Yang JY. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. *J Dent.* 2008; 36(9):718-25.

Cimilli H, Pameijer C. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *Am J Dent.* 2001 Apr.;14(2):63-6.

Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching. A critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(4):292-304.

Davidson CL, Boom G, Arends J. Calcium distribution in human and bovine surface enamel. *Caries Res*. 1973; 7: 349-59.

Dugmore CR, Rock WP. The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. *Int J Paediatr Dent*. 2003;13:295-303.

Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Res*. 2001;35:211–5.

El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC, Truin GJ. Dynamics of tooth erosion in adolescents: a 3-year longitudinal study. *J Dent*. 2010;38:131-37.

Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching. *Jada*. 2010; 141(5):546-51.

Fan Y, Sun Z, Moradian-Oldak J. Effect of Fluoride on the Morphology of Calcium Phosphate Crystals Grown on Acid-Etched Human Enamel. *Caries Res*. 2009;43:132–136.

Feagin F, Koulourides T, Pigman W. The characterization of enamel surface demineralization, remineralization, and associated hardness changes in human and bovine material. *Arch Oral Biol*. 1969;14:1407-17.

Featherstone, JD. Consensus conference on intra-oral models: evaluation techniques. *J Dent Res*. 1992 Apr;71:955-60.

Field J, Waterhouse P, German M. Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues *in vitro*. *J Dent*. 2010 Mar; 38(3):182-90. Epub 2010 Jan 15.

Flaitz CM, Hicks MJ. Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: an SEM and polarized light microscopy *in vitro* study. *J Dent Child*.1996 July-Aug.;63:249-56.

Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents – a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2001;29:264-271.

Goldstein CE, Goldstein RE, Feinman RA, Garber DA. Bleaching vital teeth: state of the art. *Quintessence Int*.1989 Oct.; 20(10):729-37.

Goldstein RE. Clareamento de dentes manchados. In: _____. *A estética em odontologia*. 2nd Ed. São Paulo: Ed. Santos; 2000. cap.12, p.245-76.

Gohring TN, Zehnder M, Sener B, Schmidlin PR. *In vitro* microleakage of adhesive-sealed dentin with lactic acid and saliva exposure: A radioisotope analysis. *J Dent*. 2004;32(3):235-40.

Gottardi MS, Brackett MG, Haywood VB. Number of in-office light-activated bleaching treatments needed to achieve patient satisfaction. *Quintessence Int*. 2006;37(2):115-20.

Hattab FN, Qudeimat MA, Al-rimawi HS. Dental discoloration: an overview. *J Esthet Dent*. 1999;11(6):291-310.

Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges *in situ*. *J Dent Res*. 2006;85(7):612-6.

Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci*.2008;116:60-5.

Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int*. 1989 Mar.;20(3):173-6.

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

Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion *in vitro*. *Biomed Mater.* 2009 Jun;4(3):034104.

Huysmans MC, Chew HP, Ellwood, RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res.* 2011;45 (Suppl 1):60-8.

Jiang T, Ma X, Wang Y, Tong H, Shen X, Hu Y, Hu J. 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.

Joiner A, Thakker G, Cooper Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness *in vitro*. *J Dent.* 2004;32:27-34.

Kim YS, Kwon HK, Kim BI. Effect of nano-carbonate apatite to prevent re-stain after dental bleaching *in vitro*. *J Dent.* 2011 Sep;39(9):636-42. Epub 2011 Jul 7.

Kugel G, Petkevis J, Gurgan S, Doherty E. Separate whitening effects on enamel and dentin after fourteen days. *J Endod.* 2007 Jan;33(1):34-7.

Larsen MJ. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res.* 1990; 69:575-80.

Laurence-Young P, Bozec L, Gracia L, Rees G, Lippert F, Lynch RJ, Knowles JC. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behavior in relation to erosive challenge and remineralization. *J Dent.* 2011 Apr;39(4):266-72.

Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent.* 2004 Oct.;92:337-42.

Li L, Pan H, Tao J, Xu X, Mao C, Gub X, Tang R. Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *J Mater Chem.* 2008;18:4079–84.

Lussi A. Dental erosion- Novel remineralizing agents in prevention or repair. *Adv Dent Res.* 2009 Aug;21:13-6.

Lussi A, Schaffner M. Progression of the risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Res.* 2000;34:182-87.

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion: an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):2-12.

Magalhães AC, Stancari FH, Rios D, Buzalaf MAR. Effect of an experimental 4% titanium tetrafluoride varnish on dental erosion by a soft drink. *J Dent.* 2007 Sep.;35(11):858-61.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:158-70. Epub 2011 Jun 23.

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

Min JH, Kwon HK, Kim BI. The addition of nano-sized hydroxyapatite to a sports drink to inhibit dental erosion: in vitro study using bovine enamel. *J Dent.* 2011 Sep;39(9):629-35.

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.

Papathanasiou A, Kastali S, Perry RD, Kugel G. Clinical evaluation of a 35% hydrogen peroxide in-office whitening system. *Compend Contin Educ Dent.* 2002;23(4):335-344.

Perdigão J, Francci C, Swift EJ JR, Ambrose WW, Lopes M. Ultra-morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide-bleached enamel. *Am J Dent.* 1998 Dec.;11(6):291-301.

Piangprach T, Hengtrakool C, Kukiattrakoon B, Kedjarune-Leggat U. The effect on salivary factors on dental erosion various age groups and tooth surfaces. *J Am Dent Assoc.* 2009;140:1137-1143.

Pinheiro HB, Cardoso PE. Influence of five home whitening gels and a remineralizing gel on the enamel and dentin ultrastructure and hardness. *Am J Dent.* 2011 Jun;24(3):131-7.

Pinto CF, Paes Leme AF, Cavalli V, Giannini M. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching on sound and artificial enamel carious lesions. *Braz Dent J.* 2009;20(1):48-53.

Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure and mineral content. *J Endod.* 2000 Apr.;26(4):203-6.

Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralization. *British Dental Journal.* 2005 March;198(5):285-90.

Ranjitkar S, Rodriguez JM, Kaidonis JA, Richards LC, Townsend GC, Bartlett DW. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on erosive enamel and dentine wear by toothbrush abrasion. *J Dent.* 2009 Apr;37(4):250-4. Epub 2009 Jan 20.

Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker G, Morgan MV, et al. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res.* 2008;87:344-8.

Ren YF, Amin A, Malmstrom H. Effects of tooth whitening and orange juice on surface properties of dental enamel. *J Dent.* 2009 Jun;37(6):424-31. Epub 2009 Feb 23.

Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod.* 1996 Jan.;22(1):23-6.

Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Research.* 2011;45 (Suppl 1):13-23.

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Research.* 2011; 45 (Suppl 1):69-77.

Smidt A, Feuerstein O, Topel M. Mechanical, morphologic and chemical effects of carbamide peroxide bleaching agents on human enamel in situ. *Quintessence Int.* 2011 May;42(5):407-12.

Sulieman M, Addy M, MacDonald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent.* 2004;32(7):581-90.

Sullivan RJ, Masters J, Cantore R, Roberson A, Petrou I, Stranick M et al. Development of an enhanced anticaries efficacy dual component dentifrice containing sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate. *Am J Dent.* 2001 May;14: 3A-11A.

Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T, Wang Y. Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent.* 2011 Oct;39(10):686-92. Epub 2011 Aug 9.

Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent.* 2008 Jan;36(1):74-9. Epub 2007 Nov 28.

Torres CRG, Borges AB, Kubo CH, Gonçalves SEP, Araújo RM, Celaschi S, et al. Clareamento dental com fontes híbridas LED/laser. São Paulo: Grafica e Editora Papel Brasil; 2004. 140p.

Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent.* 2011 Jun; 39(6):430-7. Epub 2011 Apr 8.

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

Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dent Clin N Am.* 2010;54:565-78.

Wegehaupt FJ, Attin T. The role of fluoride and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate in the prevention of erosive/abrasive wear in an in vitro model using hydrochloric acid. *Caries Res.* 2010;44(4):358-63. Epub 2010 Jul 29.

Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions—a review. *Oral Health and Preventive Dentistry.* 2003;4: 245–53.

Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T. Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand.* 2008;66(4):225-30.

Young A, Tenuta LMA. Initial erosion models. *Caries Res.* 2011;45 (Suppl 1):33-42.