

FERNANDA ALMEIDA DE AZEVEDO

**PENETRAÇÃO TRANS-AMELODENTINÁRIA DE H₂O₂ EM DENTES BOVINOS
RESTAURADOS E SUBMETIDOS A TRATAMENTOS CLAREADORES**

ARAÇATUBA – SP

2013

FERNANDA ALMEIDA DE AZEVEDO

**PENETRAÇÃO TRANS-AMELODENTINÁRIA DE H₂O₂ EM DENTES BOVINOS
RESTAURADOS E SUBMETIDOS A TRATAMENTOS CLAREADORES**

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Fraga Briso

ARAÇATUBA – SP

2013

Dedicatória

Aos meus pais, **Isabel de Marillac Faustino Almeida de Azevedo e Nivaldo Passos de Azevedo**, por estarem comigo em todos os momentos da minha vida, tornando possível a realização dos meus sonhos independente das dificuldades. Por todo o amor incondicional, carinho, compreensão e educação. Dedico todas as minhas vitórias a vocês, com imensa gratidão.

Agradecimentos

A **Deus**, pela proteção diária permitindo que eu trilhe meus caminhos.

Aos **meus irmãos**, pelo amor, pelo apoio e por serem exemplos por conquistarem o que queriam.

Ao **Marcelo**, por estar do meu lado sempre sendo um grande companheiro, pelo amor, além de toda compreensão.

Ao **Prof. Dr. André Luiz Fraga Briso**, por toda a orientação durante estes anos, me ensinando e mostrando a finalidade da pesquisa científica, sempre com muita dedicação e seriedade. Agradeço por toda a confiança que teve em mim, pois tudo o que conquistei dentro da Dentística foi idealizado por você, um grande exemplo de professor. Todas as bolsas que tive me ajudaram chegar até o final da minha formação. Muito obrigada.

Ao **Prof. Dr. Paulo Henrique dos Santos**, muito obrigada pela disponibilidade em sempre ajudar realizando as nossas estatísticas e, em particular no meu caso tendo que repetir todas as vezes, se mostrando muito prestativo.

A **Marjo**, minha grande amiga, entramos juntas no estágio e desde então continuamos até hoje. Muito obrigada por todo o companheirismo, por toda a dedicação nos meus projetos ficando comigo sempre e me ajudando em todas as horas independente de qualquer coisa. Acho que tudo não seria a mesma coisa sem você. Todas as minhas vitórias na Dentística são suas também. Torço muito por você e acredito no grande potencial que tem, confia em você que tudo vai dar certo. Sentirei saudades.

Aos **meus amigos da graduação**, em especial o **Clubinho**, por tornar todos estes anos inesquecíveis, foram com vocês que vivi a melhor época da minha vida.

A todos os mestrandos, **Laura e André**, alunos da iniciação científica, **Fer, Mah, Coró, Estrelinha, Naiara e Laércio**, e doutores, **Lucas, Fer e Ana Paula**, obrigada por me ajudarem sempre que precisei, por tornar o nosso convívio diário tão agradável, os meus dias no departamento não teria graça sem vocês.

Ao **Rafa, Vanessa e Letícia**, pela amizade, por todo o apoio, pelo aprendizado que me passaram, por todas as risadas, todas as viagens, todas as idas nos frigoríficos e toda ajuda durante os projetos. Muito obrigada.

Aos funcionários do Departamento de Restauradora, **Rosinha, Neusinha, Peterson, Claudinha e Nelci**, obrigada por me ajudarem em tudo que precisei.

A **Carolinne Marinho**, pela convivência e amizade durante todos esses anos.

Aos pais da Marjo, **Tia Edna e Tio Donizetti**, por toda a paciência durante estes anos me carregando para todos os lados, levando almoços e lanchinhos durante os dias de realização dos projetos, fazendo os meus saquinhos de tule, enfim sendo prestativos em tudo que precisei. Muito obrigada.

AZEVEDO, FA. **PENETRAÇÃO TRANS-AMELODENTINÁRIA DE H₂O₂ EM DENTES BOVINOS RESTAURADOS E SUBMETIDOS A TRATAMENTOS CLAREADORES.** 2013. 50f. Tese de conclusão de curso (graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.

Resumo

Este estudo teve como objetivo quantificar a penetração do peróxido de hidrogênio (PH) em dentes restaurados e envelhecidos, submetidos ao tratamento clareador. Foram selecionados 75 incisivos bovinos para a confecção de discos de esmalte/dentina e divididos em 5 grupos (n=15) de acordo com os fatores em estudo, sendo: GI- discos íntegros; GII- somente com preparo cavitário; GIII- restaurados com sistema adesivo convencional e resina composta; GIV- restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina; GV- preparo impermeabilizado com adesivo autocondicionante. Após 48 horas do preparo dos espécimes, os discos foram posicionados em câmaras pulpares artificiais e alojados em placas acrílicas, que continham em seu interior solução tampão de acetato, que estabiliza o peróxido de hidrogênio que permeou a estrutura dentária. Foi realizada uma sessão clareadora empregando produto a base de PH a 35%, sendo que cada espécime recebeu 0,04 mL do produto. Posteriormente, as mesmas amostras receberam 10.000 ciclos térmicos e foi realizada a segunda sessão clareadora, como descrita anteriormente. Após cada procedimento clareador, as soluções foram coletadas, processadas e submetidas à análise da densidade óptica em Espectrofotômetro de Reflexão Ultravioleta Visível para a análise da quantidade de PH difundido. Os dados obtidos foram submetidos aos testes ANOVA e Fisher ao nível de 5%. O resultado mostrou diferença significativa na penetração trans-amelodentinária de peróxido de hidrogênio nas diferentes condições de substrato e momentos de análise ($p<0.0001$), apresentando maior penetração de peróxido no grupo II, antes da termocilagem. Após a termociclagem pode ser observado que todos os grupos apresentaram um aumento na penetração de agentes clareadores ($p<0.05$), com exceção do grupo I e II. A presença de restaurações bem como o envelhecimento térmico das mesmas contribuem para a permeação de agente clareador através da estrutura dental.

Palavras chave: Peróxido de hidrogênio. Clareamento dental.
Restauração dentária permanente.

AZEVEDO, FA. **TRANS-ENAMEL AND TRANS-DENTINAL PENETRATION OF HYDROGEN PEROXIDE IN RESTORED BOVINE TEETH AND SUBMITTED TO A BLEACHING TREATMENT.** 2013. 50f. Tese de conclusão de curso (graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.

Abstract

This study aimed to quantify the hydrogen peroxide penetration in restored and aged teeth submitted to bleaching treatment. It was obtained 75 enamel/dentin discs from the middle third of buccal surface of each bovine tooth and divided in 5 groups (n=15) according to study factors: GI- sound discs; GII- only with cavity preparation; GIII- restored with conventional adhesive system and composite; GIV- restored with glass ionomer cement resin modified; GV- cavity preparation sealed with self-etching adhesive. After 48 hours, to analyze the H₂O₂ penetration, enamel/dentin discs received treatment with hydrogen peroxide at 35% wherein 0,04 mL of bleaching product was placed in the enamel surface of each sample. To this purpose the discs were adapted in artificial pulp chambers and individually placed into acrylic plates containing acetate buffer solution, that its able to stabilize the H₂O₂ which permeated the dental structure. Then, the same samples received 10.000 thermal cycles and it was realized the second bleaching session, as described above. After each bleaching procedure the solution was collected, processed, and submitted for analysis of optical density in spectrophotometer to analyze the amount of H₂O₂ diffused. The data were submitted to ANOVA and PLSD Fisher tests at 5%. The results showed significant difference in hydrogen peroxide penetration according of substrate conditions and the moments of analysis (p<0.0001). The higher peroxide penetration was in group II, before thermo cycling. After thermo cycling it could be observed that all groups increased the bleaching agents diffusion (p<0.05), except group I and group II. Therefore the presence of restorations as well as thermal aging contributes to the bleaching agents permeation through the tooth structure.

Keywords:

Hydrogen Peroxide. Tooth Bleaching.
Dental Restoration, Permanent.

Lista de figuras

Figura 1-	Confecção dos espécimes a partir de dentes bovinos íntegros	18
Figura 2-	Confecção dos preparos cavitários	20
Figura 3-	Padronização do preparo cavitário realizado nos discos de esmalte/dentina com ponta diamantada	20
Figura 4-	Sequência operatória utilizada nos espécimes do grupo III	21
Figura 5-	Sequência operatória utilizada para restaurar os espécimes do grupo IV	22
Figura 6-	Aplicação e fotoativação do adesivo Adper Easy One (Grupo V)	23
Figura 7-	Área (mm ²) da superfície dental que efetivamente manteve contato com o produto clareador	23
Figura 8-	Câmaras pulpares montadas com espécimes dos diversos grupos de estudo	25
Figura 9-	Produto e procedimento clareador	25
Figura 10-	Coleta do tampão de acetato com o peróxido difundido	26
Figura 11-	Tubos de ensaio com concentrações conhecidas de peróxido de hidrogênio, curva padrão	29
Figura 12-	Espécimes e suas devidas marcações: verde – espécime	31

íntegro (GI), laranja – somente preparo cavitário (GII), roxo – resina composta (GIII) , azul –cimento de ionômero de vidro modificado por resina (GIV) e rosa – adesivo autocondicionante (GV)

Figura 13- Grupos em um único saco de tule, durante banho 31

Figura 14- Máquina de ciclagem térmica empregada no estudo 32

Lista de Quadros

Quadro 1-	Divisão dos grupos experimentais conforme as condições do substrato	19
Quadro 2-	Produtos empregados no experimento	24
Quadro 3-	Dados utilizados na confecção da curva padrão (valores em μl)	27
Quadro 4-	Valores da absorbância da curva padrão na primeira sessão	28
Quadro 5-	Valores da absorbância da curva padrão realizada na segunda sessão clareadora (após a ciclagem térmica)	28

Lista de Gráficos

- | | | |
|------------|---|----|
| Gráfico 1- | Representação gráfica da curva padrão de peróxido de hidrogênio da primeira sessão clareadora (antes da ciclagem térmica) | 28 |
| Gráfico 2- | Representação gráfica da curva padrão de peróxido de hidrogênio da segunda sessão clareadora | 29 |

Lista de Tabelas

Tabela 1-	Teste de Fisher PLSD aplicado para médias (desvio padrão) da concentração ($\mu\text{g/ml}$) da amostra de acordo com os grupos e momentos de leitura	33
-----------	---	----

Sumário

1 Introdução	15
2 Proposição	17
3 Materiais e Métodos	18
3.1 Delineamento experimental	18
3.2 Obtenção e padronização dos espécimes	18
3.3 Divisão dos grupos	19
3.4 Preparo das câmaras pulpares artificiais (CPAs)	24
3.5 Procedimento clareador	25
3.6 Preparo das soluções e penetração trans-amelodentinária de H ₂ O ₂	26
3.7 Momento da leitura	30
3.8 Ciclagem térmica	30
4 Resultados	33
5 Discussão	34
6 Conclusões	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXO A	41

1 Introdução

O avanço científico e tecnológico pelo qual a Odontologia Estética passou nas últimas décadas propiciou o desenvolvimento de materiais e técnicas que possibilitam a realização de tratamentos estéticos com resultados cada vez mais previsíveis e conservativos. Neste contexto, o tratamento clareador tem sido procurado por muitos pacientes que associam a obtenção de dentes brancos com a presença de saúde e beleza.

O processo clareador baseia-se na reação de oxidação ¹ ocorrida nas substâncias orgânicas responsáveis pela pigmentação dos dentes. Essas substâncias são formadas por cadeias moleculares longas e complexas que, uma vez oxidadas transformam-se em moléculas menores e mais simples, possibilitando a obtenção de dentes mais claros ^{1,2}.

Apesar da técnica caseira com o uso de peróxido de carbamida ainda ser considerada o tratamento padrão, tem-se vivenciado intensas ações de marketing e certa predileção pelo uso de produtos mais concentrados a base de peróxido de hidrogênio (20% a 40%). No entanto, apesar do sucesso clareador destes materiais, alguns estudos alertam para os possíveis efeitos pulpares que esta terapia pode ocasionar ³⁻⁷.

Ainda assim, muitas vezes a terapia clareadora é realizada em dentes restaurados. Esse fato torna-se preocupante uma vez que as interfaces degradadas das restaurações podem representar vias expressas de penetração do peróxido de hidrogênio para o complexo dentino-pulpar ^{4,8}, sendo que nenhum material é capaz de prevenir a microinfiltração por completo ^{2,3}. Esta condição clínica tem sido relacionada com a maior ocorrência de sensibilidade dentária durante o procedimento ⁸⁻¹⁰, que resulta de uma pulpite reversível por causa da irritação química gerada pelo peróxido de hidrogênio ⁴.

Desta maneira o emprego de sistemas adesivos ou selantes de fóssulas e fissuras tem sido preconizado para vedar túbulos expostos, trincas e cavitações, removendo a solução de continuidade do material clareador em direção ao tecido

pulpar. Assim, diante da necessidade de proteção do complexo dentino-pulpar frente à um possível estresse oxidativo gerado pela intensa difusão de peróxidos, torna-se necessário conhecer e comparar a penetração trans-amelodentinária do peróxido de hidrogênio ocorrida em dentes bovinos restaurados, bem como avaliar se restaurações envelhecidas são capazes de manter a capacidade de modulação da difusão do material clareador pela estrutura dental.

2 Proposição

- 1- Avaliar in vitro a penetração do peróxido de hidrogênio aplicado em dentes bovinos restaurados ou selados;
- 2- Avaliar se o envelhecimento das restaurações influencia os níveis de penetração de peróxido de hidrogênio.

HIPÓTESES NULAS

- A presença de restaurações não interfere na penetração do peróxido de hidrogênio.
- A realização da ciclagem térmica não influencia na penetração de peróxido de hidrogênio em dentes restaurados.

3 Materiais e Métodos

3.1 Delineamento experimental

Os fatores estudados foram o tratamento restaurador e o uso da ciclagem térmica. A variável de resposta foi a penetração trans-amelodentinária do peróxido de hidrogênio e os três princípios básicos de experimentação (repetição, aleatoriedade e blocagem) foram respeitados. A amostragem foi composta por 75 dentes ($n=15$), submetidos às sessões clareadoras realizadas antes e após a ciclagem térmica, caracterizando um delineamento em blocos completos casualizados com esquema em parcelas subdivididas.

3.2 Obtenção e padronização dos espécimes

Foram utilizados 75 incisivos bovinos permanentes obtidos de novilhos com idade entre 24 e 30 meses. Os dentes foram limpos com curetas periodontais e receberam profilaxia com pedra pomes e água. Posteriormente, com auxílio de uma ponta diamantada para corte de vidro (Dinser Ferramentas Diamantadas Ltda.), sob constante irrigação, foram obtidos discos com 5,7 mm de diâmetro. Em seguida, os discos tiveram a superfície dentinária regularizada por meio de movimentos giratórios manuais sobre lixas de óxido de alumínio de granulação 400 e 600 (T469-SF- Noton, Saint-Gobam Abrasivos Ltda., Jundiaí-SP, Brasil), até apresentarem uma espessura padronizada de 3,5 mm (1,3 mm de esmalte e 2,2 mm de dentina) medidos em paquímetro digital (modelo 500-144B, Mitutoyo Sul América Ltda, SP, Brasil) (Figura 1).



Figura 1 - Confeção dos espécimes a partir de dentes bovinos íntegros

3.3 Divisão dos grupos

Os espécimes foram divididos em 5 grupos (n=15), como apresentado na quadro 1 e descrito abaixo.

Quadro 1- Divisão dos grupos experimentais conforme as condições do substrato

Grupo	Preparo do corpo-de-prova
I	Espécimes hígidos
II	Espécimes preparados e mantidos sem material restaurador
III	Espécimes restaurados com o sistema restaurador resinoso (Single Bond + Filtek Supreme)
IV	Espécimes restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC)
V	Cavidades impermeabilizadas com o adesivo autocondicionante (Adper Easy One)

Os espécimes do **Grupo I** apresentaram o esmalte dental íntegro, sendo o grupo controle, uma vez que possivelmente ofereceriam maiores desafios para penetração do peróxido de hidrogênio.

Nos espécimes dos **Grupos II, III, IV e V** foram realizados preparos cavitários padronizados com a utilização de uma ponta diamantada FG 2194 (KG Sorensen Ind. E Com. Ltda), com ponta ativa de 1,5 mm de comprimento e 1,8 mm de diâmetro, movida em alta rotação e sob constante refrigeração ar/água (Figuras 2 e 3).



Figura 2 - Confeção dos preparos cavitários

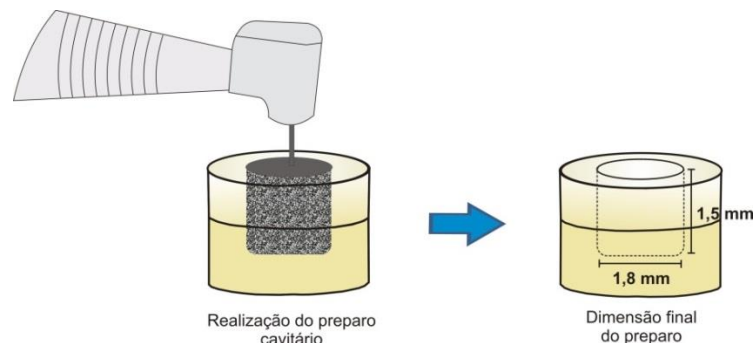


Figura 3 - Padronização do preparo cavitário realizado nos discos de esmalte/dentina com ponta diamantada

Todos os espécimes de todos os grupos após o preparo cavitário receberam profilaxia com água e pedra pomes.

Grupo II não receberam material restaurador.

Grupo III tiveram os preparos condicionados com ácido fosfórico 37% (Condac 37, FGM, Joinville, SC, Brazil), durante 15 segundos em esmalte e dentina. Após a rinsagem e secagem seletiva do substrato, utilizou-se o adesivo Adper Single Bond2 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) seguindo as recomendações do fabricante, e polimerizado por 10 segundos, com o aparelho Radii-cal (SDI, Bayswater, Victoria, Australia). As cavidades foram restauradas com 2 incrementos da resina composta Filtek Supreme (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), polimerizados por 40 segundos com densidade luminosa de 500 mW/cm² (Figura 4).

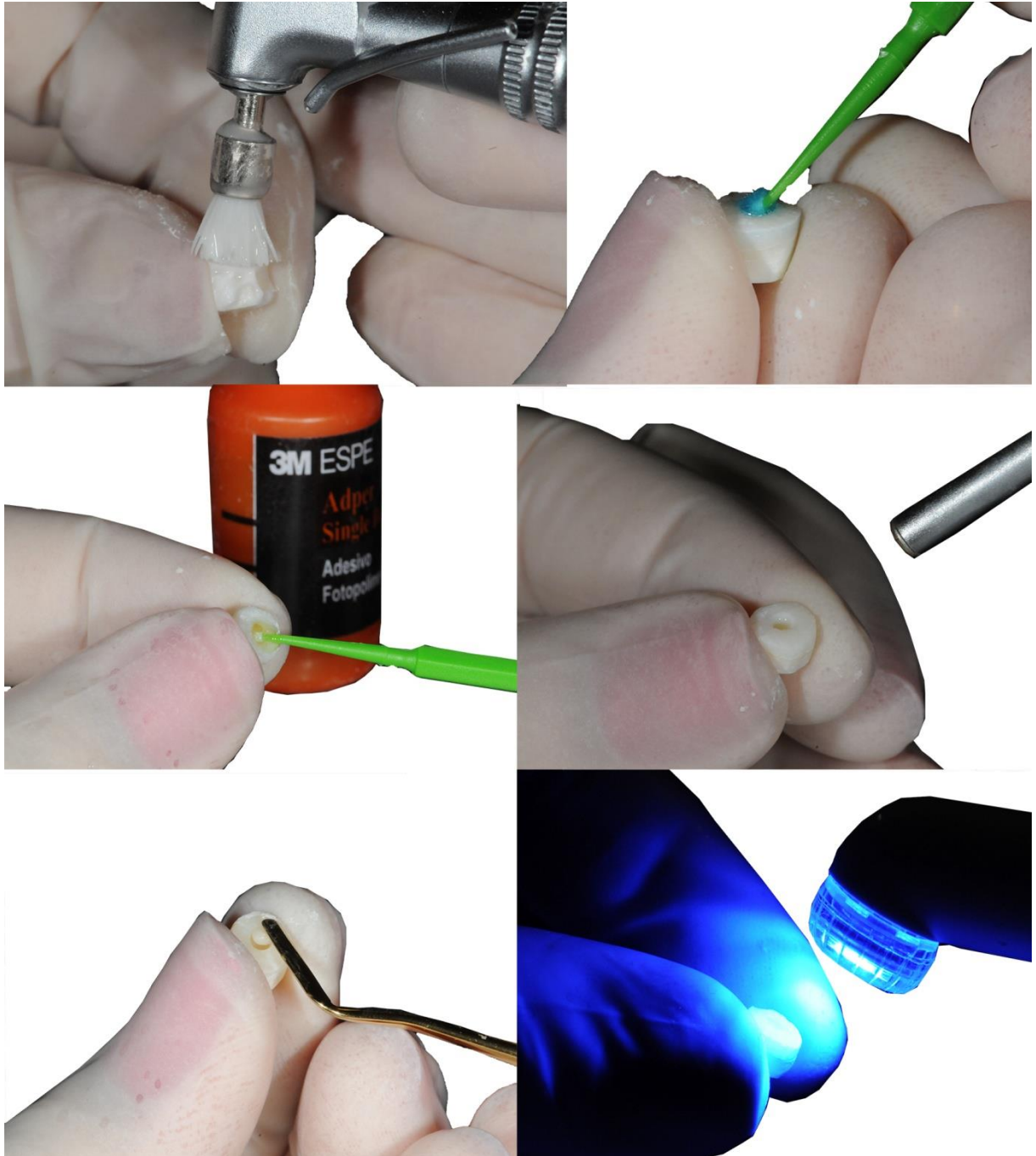


Figura 4 - Sequência operatória utilizada nos espécimes do grupo III

Grupo IV receberam aplicação do ácido poliacrílico 20% por 20 segundos e, posteriormente, foram lavados e secos com spray de ar. O cimento de ionômero de vidro modificado por resina (IVMR) Fuji II LC (GC Corporation, Tokyo, Japão) foi proporcionado seguindo as recomendações do fabricante e inserido com pontas

Centrix (DFL Ind./ Rio de Janeiro, RJ, Brazil) para evitar a formação de bolhas. Em seguida, foi feita a fotoativação por 20 segundos (Figura 5).



Figura 5 - Sequência operatória utilizada para restaurar os espécimes do grupo IV

Grupo V receberam apenas uma camada do adesivo autocondicionante Adper Easy One (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) seguindo as recomendações do fabricante, friccionando-o com microbrush durante 20 segundos. Em seguida foi realizada secagem com suaves jatos de ar durante 5 segundos. Na sequência, o material resinoso foi fotoativado por 10 segundos (Figura 6).

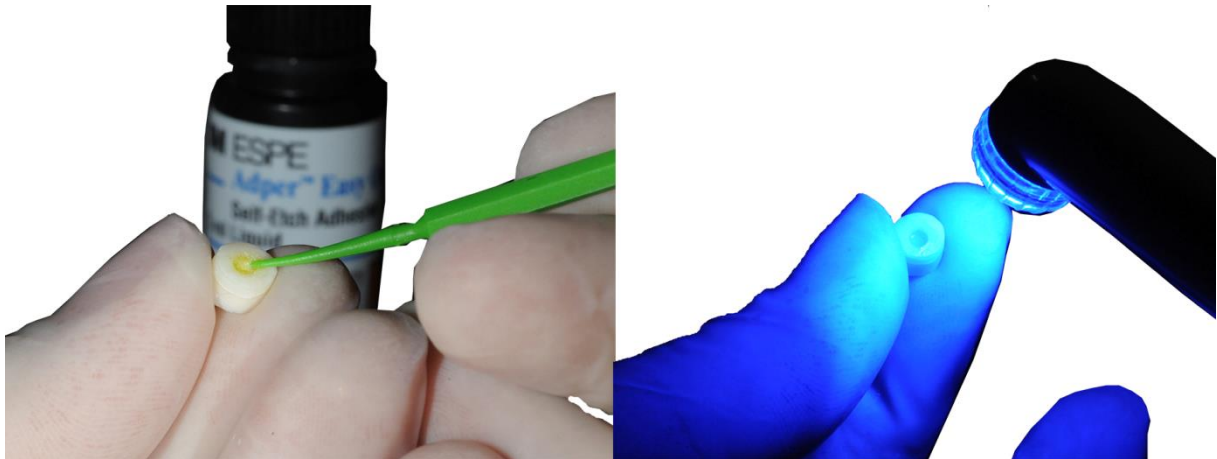


Figura 6 - Aplicação e fotoativação do adesivo Adper Easy One (Grupo V)

Deste modo cada grupo gerou discos de esmalte/dentina com diferentes áreas de contato com o produto clareador (Figura 7).

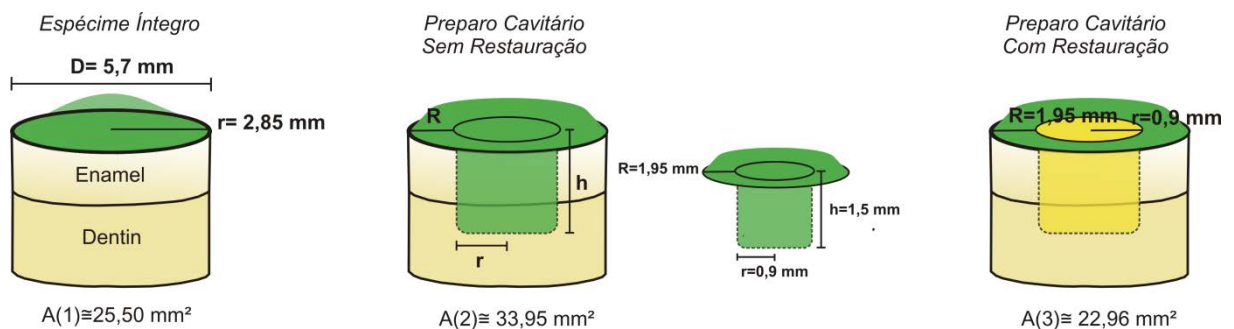


Figura 7 - Área (mm^2) da superfície dental que efetivamente manteve contato com o produto clareador

Após 24 horas da realização das restaurações, os espécimes receberam acabamento e polimento com discos de Sof-Lex (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) e pontas Enhance (Dentsply, Konstanz, Alemanha), e foram posicionados nas câmaras pulpares artificiais para realização da sessão clareadora. Os lotes dos produtos empregados no experimento estão descritos no Quadro 2.

Quadro 2 – Produtos empregados no experimento

Produto	Fabricantes	Lote
Ácido fosfórico 37%	FGM, Joinville, SC, Brazil	221111
Adper Single Bond 2	3M ESPE, St, Paul, MN, USA	N340867BR
Filtek Supreme	3M ESPE, St, Paul, MN, USA	3633586
Fuji II LC	GC Corporation, Tokyo, Japão	1102041
Adper Easy One	3M ESPE, St, Paul, MN, USA	436286

3.4 Preparo das câmaras pulpares artificiais (CPAs)

Os espécimes foram adaptados a um dispositivo desenvolvido no Laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais da Faculdade de Odontologia de Araraquara-Unesp ^{11,12}. Cada CPA apresenta 2 compartimentos: o da porção superior, com uma abertura de 8 mm de diâmetro e outra abaixo com 6 mm de abertura, permitindo o posicionamento e travamento adequado do espécime; a porção inferior apresenta perfurações laterais que permitem a circulação da solução utilizada para quantificar o peróxido de hidrogênio penetrado no espécime.

Os espécimes foram posicionados nas CPAs entre dois anéis de silicone um superior com diâmetro interno de 4,50 mm e espessura de 1,58 mm e outro inferior com diâmetro interno de 5,44 mm e espessura de 1,77 mm (Rodimar rolamentos Ltda.- Araraquara, SP, Brasil) (Figura 8).

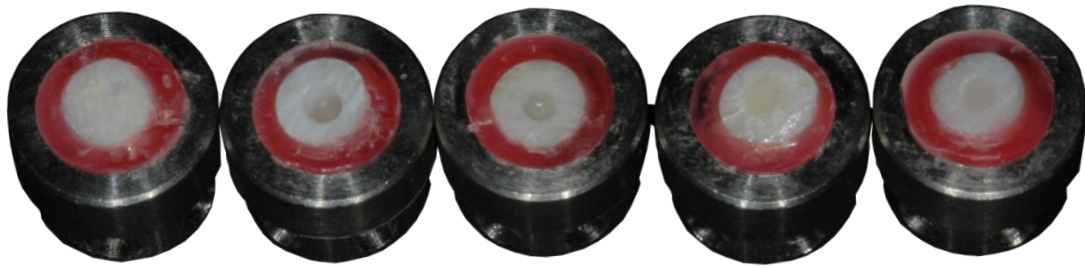


Figura 8 - Câmaras pulpares montadas com espécimes dos diversos grupos de estudo

3.5 Procedimento clareador

O tratamento clareador foi realizado com o produto à base de peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP Maxx - FGM Produtos Odontológicos), sendo manipulado de acordo com as recomendações do fabricante. O produto foi inserido em uma seringa graduada descartável de 1 ml, sendo 0,04 ml aplicado sobre cada espécime, permanecendo em contato com o tecido dental/restauração por 15 minutos. Posteriormente, a superfície foi limpa com sugadores e papel absorvente e duas novas aplicações foram efetuadas, totalizando 45 minutos de exposição ao clareador (Figura 9).



Figura 9- Produto e procedimento clareador

3.6 Preparo das soluções e penetração trans-amelodentinária de H_2O_2

Para quantificar o peróxido de hidrogênio que penetrou através dos discos de esmalte e dentina, 1 ml de solução tampão de acetato foi despejada em casulos (placas de cultura celular) que também receberam as CPAs. A superfície dentinária permaneceu em contato com essa solução e o peróxido de hidrogênio difundido através da estrutura dental fez parte da mesma. Após o clareamento foi então adicionada a solução de violeta leucocristal e a solução contendo enzima peroxidase (Figura 10).

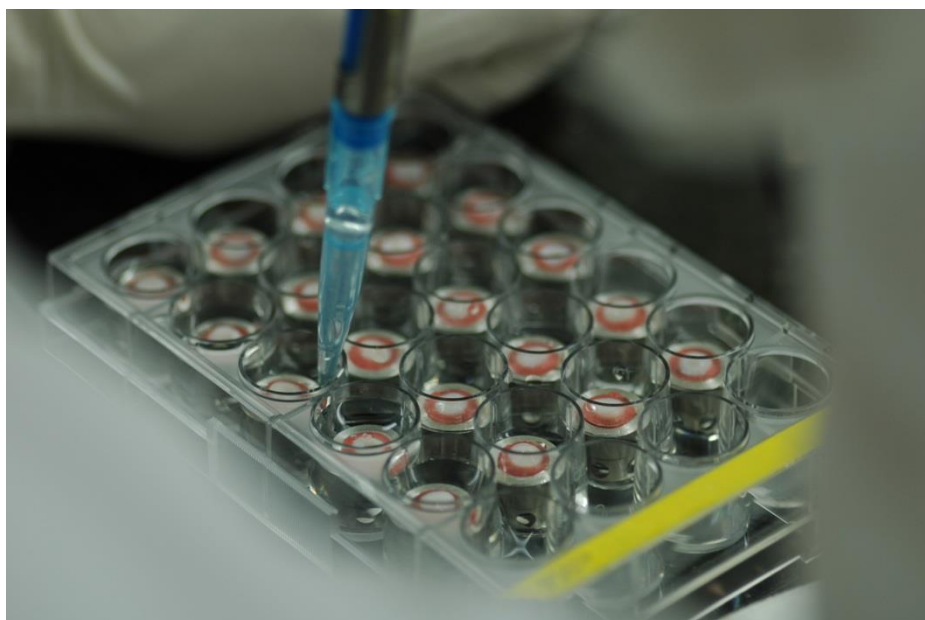


Figura 10 - Coleta do tampão de acetato com o peróxido difundido

Para o preparo da solução tampão de acetato foram misturadas, em volumes iguais, as soluções previamente manipuladas de acetato de sódio 2 mols (M) e ácido acético 2M. O pH resultante foi ajustado para 4,5 ¹³.

Para a solução de leucocristal, o corante violeta leucocristal foi dissolvido em solução ácido clorídrico (HCl 0,5% v/v), obtendo assim uma solução com concentração 0,5 mg/ml ¹³.

A solução com enzima peroxidase foi confeccionada com peroxidase extraída de rábano silvestre diluído em água deionizada, com a obtenção de uma solução com concentração de 1mg/ml ¹³.

Este método foi preconizado por Mottola et al em 1970¹⁴ e baseia-se na reação do peróxido de hidrogênio e violeta leucocristal, catalizado pela enzima peroxidase. A coloração dessa mistura varia sua intensidade de acordo com a quantidade de peróxido. Assim, como a absorbância é proporcional à concentração do peróxido, foi possível avaliar indiretamente a quantidade de peróxido que difundiu da superfície dental para a solução contida na CPA.

Para tanto foi estabelecida uma curva de calibração, onde valores de absorbância de soluções de H₂O₂ de concentrações conhecidas foram medidas (Quadro 3) e utilizadas para obtenção da curva padrão na primeira e segunda sessões clareadoras (Quadros 4 e 5). A partir dos dados obtidos, foram confeccionadas representações gráficas dessas curvas (Figura 11) (Gráficos 1 e 2). O método empregado para a padronização foi a iodometria ¹³, que consiste na reação do peróxido de hidrogênio em meio ácido, com a solução de iodeto de potássio 1M, liberando iodo e resultando em uma solução cor âmbar escuro.

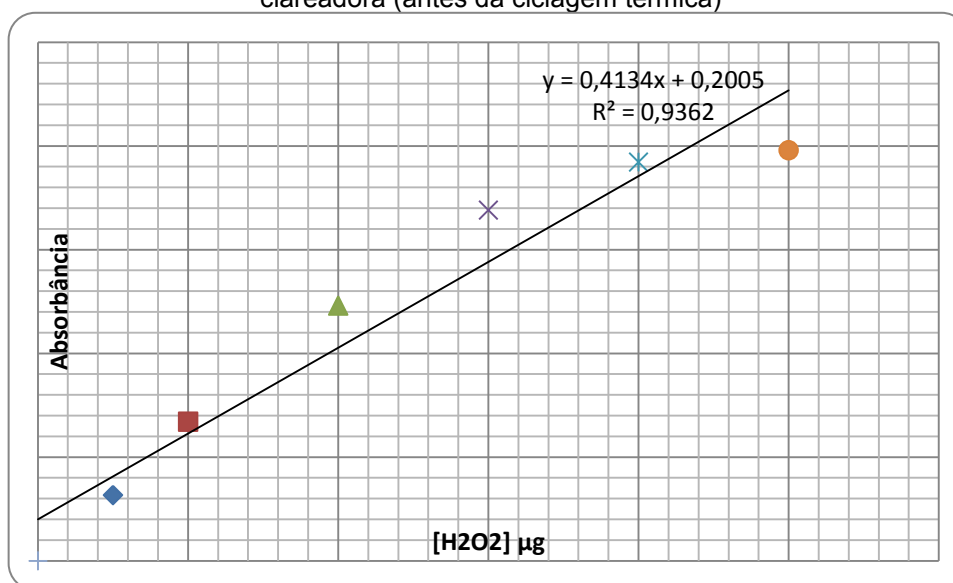
Quadro 3- Dados utilizados na confecção da curva padrão (valores em µl)

Solução	Branco						
Água	2750	2750	2750	2750	2750	2750	2750
Corante	100	100	100	100	100	100	100
Tampão de acetato	100	90	80	60	40	20	-
Peróxido de hidrogênio	-	10	20	40	60	80	100
Peroxidase	50	50	50	50	50	50	50
Valores da Iodometria	0 µg	0,5 µg	1µg	2µg	3µg	4µg	5µg

Quadro 4- Valores da absorbância da curva padrão na primeira sessão

Iodometria	0 µg	0,5 µg	1 µg	2 µg	3 µg	4 µg	5 µg
Absorbância	-0,235	0,317	0,671	1,231	1,691	1,922	1,979

Gráfico 1– Representação gráfica da curva padrão de peróxido de hidrogênio da primeira sessão clareadora (antes da ciclagem térmica)



Quadro 5- Valores da absorbância da curva padrão realizada na segunda sessão clareadora (após a ciclagem térmica)

Iodometria	0 µg	0,5 µg	1 µg	2 µg	3 µg	4 µg	5 µg
Absorbância	-0,283	0,282	0,648	1,22	1,67	1,888	1,922

Gráfico 2– Representação gráfica da curva padrão de peróxido de hidrogênio da segunda sessão clareadora

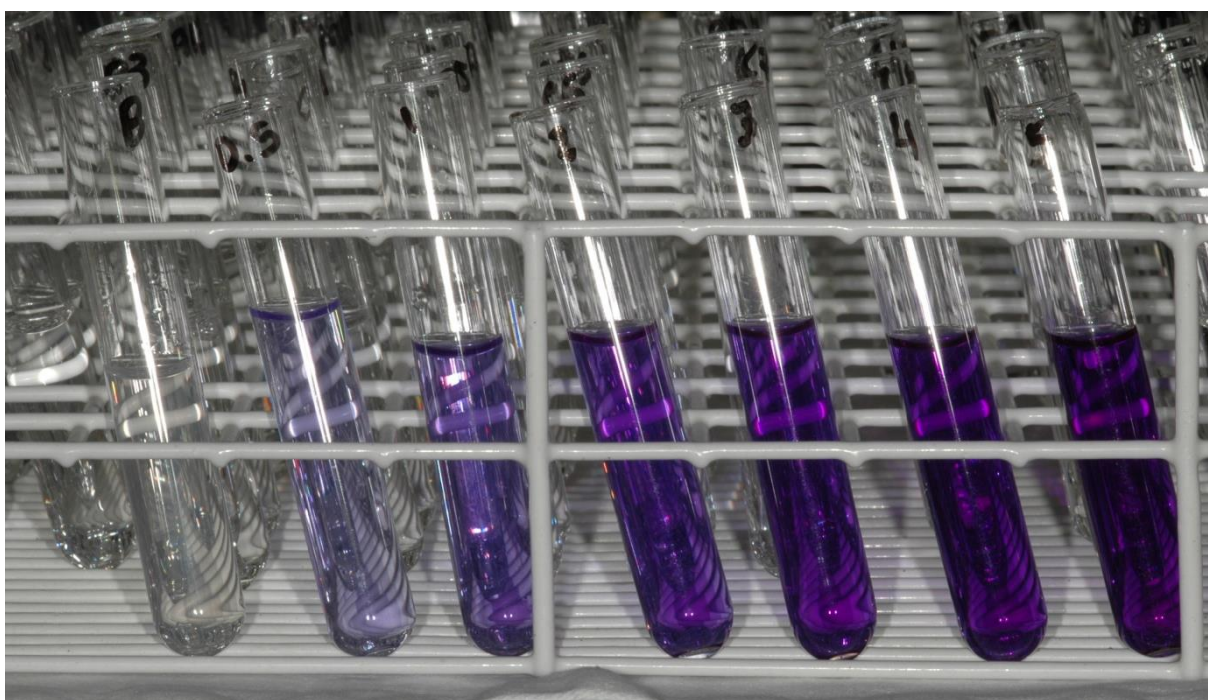
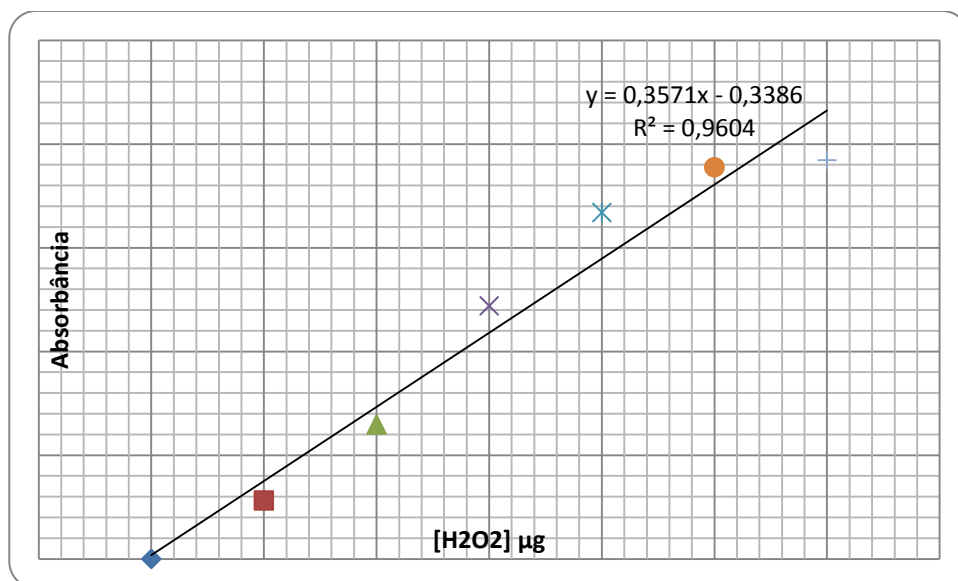


Figura 11– Tubos de ensaio com concentrações conhecidas de peróxido de hidrogênio, curva padrão

Para a quantificação do peróxido difundido foi adicionado 25µl da amostra, 100µl de corante leucocristal, 50µl de enzima peroxidase, em tubo de ensaio contendo 2750µl de água deionizada e 75µl de tampão de acetato.

A leitura das absorbâncias das soluções foi realizada com o Espectrofotômetro de Reflexão Ultravioleta Visível*, Modelo UV-2540 (Shimadzu, Kyoto, Japão), 30 minutos após cada sessão clareadora.

A partir do gráfico, pode-se obter o fator de calibração (Fc), equivalente à razão entre a concentração da solução padrão de peróxido de hidrogênio e a sua absorbância, sendo utilizado a seguinte equação:

$$Fc = \frac{[\text{solução da amostra}]}{\text{Absorbância}}$$

O fator de calibração (Fc) médio foi utilizado para calcular a concentração de peróxido de hidrogênio contido no espécime de cada grupo experimental. O Fc médio da primeira sessão clareadora foi de 1,85, e na segunda de 1,91. Para calcular a [amostra] foi realizado o seguinte cálculo:

$$[\text{amostra}] = \text{Absorbância} \times Fc/3$$

Os dados obtidos foram tabulados e verificadas as pressuposições de normalidade e homogeneidade, direcionando para a realização dos testes paramétricos ANOVA e Fischer. Foi utilizado o programa estatístico Stat View, ao nível de significância a 5%.

3.7 Momento da leitura

As soluções foram coletadas em 2 momentos distintos: T1- leitura realizada imediatamente após a primeira sessão clareadora; T2- leitura realizada imediatamente após a segunda sessão clareadora (após a termociclagem).

3.8 Ciclagem térmica

Os espécimes foram identificados e acondicionados separadamente de acordo com o grupo experimental (Figura 12). Posteriormente foram submetidos à 10.000 ciclos térmicos, realizados em água destilada a 5°C (±1°C) e 55°C (±1°C)

(Figura 13). Cada banho foi realizado pelo tempo de 30 segundos, com 3 segundos de transferência entre as cubas (Figura 14).



Figura 12 - Espécimes e suas devidas marcações: verde – espécime íntegro (GI), laranja – somente preparo cavitário (GII), roxo – resina composta (GIII) , azul –cimento de ionômero de vidro modificado por resina (GIV) e rosa – adesivo autocondicionante (GV)



Figura 13 - Grupos em um único saco de tule, durante banho



Figura 14 - Máquina de ciclagem térmica empregada no estudo

Após a ciclagem térmica, os espécimes foram submetidos a novo procedimento clareador e quantificação de H_2O_2 , da mesma forma como realizado na primeira sessão.

4 Resultados

A aplicação do teste ANOVA mostrou diferença significativa na penetração trans-amelodentinária de peróxido de hidrogênio nas diferentes condições de substratos e momentos de análise ($p < 0.0001$)

A aplicação do Teste de Fisher ao nível de significância de 5% mostrou que quando a penetração trans-amelodentinária de H_2O_2 é analisada antes da ciclagem térmica, observa-se desempenho distinto em todas as condições estudadas. Pode-se verificar que a condição do substrato influenciou a intensidade de peróxido de hidrogênio, verificando-se maiores valores nos espécimes do grupo II (com preparo cavitário e sem restauração), seguido respectivamente dos grupos I (espécimes íntegros), III (restaurados com resina), IV (restaurados com IVMR) e V (adesivo autocondicionante) (Tabela 1).

Também pode ser observado que os grupos restaurados (III, IV e V) apresentaram uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) com relação ao tempo de análise, em que tiveram maiores valores de penetração de peróxido após a ciclagem térmica. Enquanto o grupo II apresentou uma diminuição, e o grupo I não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p > 0.05$) antes e após a realização dos ciclos térmicos.

Tabela 1 – Teste de Fisher PLSD aplicado para médias (desvio padrão) da concentração ($\mu g/ml$) da amostra de acordo com os grupos e momentos de leitura

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
Antes da Ciclagem	4.34(0.6)Ab	4.63(0.2)Aa	3.90(0.9)Bc	3.71(0.4)Bd	3.44(0.9)Be
Após a Ciclagem	4.35(0.8)Aa	4.54(0.4)Ba	4.27(0.7)Aa	4.26(2.6)Aa	4.36(1.8)Aa

Médias seguidas por letra distintas, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si ($p < 0,05$).

5 Discussão

No presente estudo foram utilizados dentes bovinos para a confecção das unidades experimentais. Apesar deste modelo experimental ter como característica o aumento do diâmetro dos túbulos dentinários conforme se aproximam da polpa ^{15,16}, este substrato mostra-se adequado para a utilização nas câmaras pulpares artificiais, possibilitando padronização da espessura dos tecidos e facilidade de obtenção.

A metodologia utilizada para a quantificação do peróxido de hidrogênio foi inicialmente desenvolvida por Mottola ¹⁴ e foi adotada neste trabalho por se tratar de um método preciso e de alta sensibilidade. A substância final contendo peróxido de hidrogênio, violeta leucocristal e peroxidase caracteriza-se pela coloração violeta, variando sua intensidade de acordo com a quantidade de peróxido presente na solução. Esta característica possibilita quantificar o peróxido penetrado e difundido pela estrutura dental.

O objetivo do nosso estudo foi avaliar se a presença de restaurações envelhecidas influenciaria a penetração de peróxido de hidrogênio durante o tratamento clareador. Para simular esta condição clínica, os espécimes foram submetidos ao procedimento de envelhecimento artificial da interface restauradora, através da realização da ciclagem térmica. A ciclagem térmica tem sido utilizada a fim de simular as mudanças térmicas que ocorrem na cavidade bucal, que causam estresse na interface restauradora, com criação de microfendas que facilitam a passagem de fluidos e potencializam a degradação hidrolítica da interface adesiva ¹⁷. Os números de ciclos empregados suficientes para produzir este efeito variam de acordo com o material restaurador empregado. Segundo a ISO TR 11450 ¹⁸, 500 ciclos são suficientes para simular o envelhecimento de restaurações adesivas. No presente trabalho foram utilizados 10.000 ciclos, o que corresponderia a aproximadamente um ano de função clínica ¹⁹.

Durante o presente trabalho, foram realizados o procedimento clareador e a ciclagem térmica em espécimes íntegros e espécimes que possuíam somente o preparo cavitário, sem nenhum material restaurador. Estes grupos foram

considerados controles, pois ofereceriam a menor resistência à penetração de peróxido ou representaria uma condição de tratamento normal. Esta expectativa foi confirmada durante a primeira sessão clareadora, momento em que foi constatado que os espécimes apenas preparados apresentaram os maiores valores de penetração em relação aos demais grupos. Possivelmente este resultado tenha ocorrido em razão do grande número de túbulos dentinários que ficaram expostos e em contato direto com o agente clareador. Entretanto, após a ciclagem térmica houve pequena, porém significativa redução nestes valores. Uma explicação plausível para estes resultados seria a formação e acúmulo de material orgânico no interior do preparo cavitário. Possivelmente o longo tempo de armazenamento em água durante a ciclagem e a dificuldade de se limpar adequadamente as paredes de fundo e circundantes do preparo colaboraram para esta formação.

Os altos valores de penetração obtidos nos espécimes íntegros possivelmente tenham relação com a maior área que ficou em contato com o produto clareador. Após a ciclagem este grupo permaneceu inalterado, o que pode ser um indício de que o estresse térmico não produziu danos estruturais no esmalte e na dentina.

Apesar de alguns estudos prévios mostrarem que a presença de restaurações de resina composta possibilita menor penetração de peróxido do que a presença de restaurações de ionômero de vidro modificado por resina ^{9,13}, no presente estudo os resultados foram opostos. Os espécimes restaurados com resina composta possibilitaram maior penetração de H₂O₂ do que aqueles restaurados com o material ionomérico, tanto antes como após a termociclagem. Acredita-se que o vedamento marginal do ionômero de vidro, associado a sua expansão higroscópica ²⁰ tenham colaborado para que as restaurações de ionômero dificultassem a passagem do peróxido pela interface dente/restauração. Neste contexto, Owens ⁸ analisando o efeito dos clareadores sobre a microinfiltração de restaurações classe V, constatou que os dentes restaurados com resina composta apresentaram maiores valores de microinfiltração que os restaurados com material ionomérico.

O grupo que utilizou o adesivo autocondicionante apresentou os menores valores de penetração na primeira sessão clareadora. Sabe-se que este sistema

adesivo reage e incorpora-se à *smear layer* no processo de hibridização ²¹⁻²³, ou seja, num primeiro momento esta forma de ligação com a estrutura dental pode ter sido responsável pelos menores valores da penetração.

Todos os grupos restaurados após a ciclagem térmica apresentaram aumento significativo na penetração de H₂O₂. Cabe destacar que o adesivo autocondicionante apresentou a maior alteração, confirmando o que foi observado por Baracco ²⁴, que avaliando a interface adesiva constatou que a realização de ciclagem térmica é altamente deletéria aos sistemas autocondicionantes de passo único.

Deste modo, os resultados obtidos nos direcionam para que as duas hipóteses nulas do experimento sejam rejeitadas, uma vez que a presença de restaurações, assim como a realização da ciclagem térmica influenciaram nos valores de penetração de peróxido de hidrogênio.

Cabe ressaltar que apesar dos valores de penetração de H₂O₂ dos grupos restaurados terem sido semelhantes aos espécimes íntegros, deve-se considerar que a área de contato do clareador com o tecido dental foi consideravelmente menor nos espécimes restaurados (área 10% menor nos espécimes restaurados). Estes dados nos direcionam para a necessidade de realização de novos estudos em que esta influência possa ser melhor avaliada.

6 Conclusões

- A presença de restaurações interfere na penetração do peróxido de hidrogênio.
- Restaurações envelhecidas apresentam maior penetração de peróxido de hidrogênio durante o clareamento dental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- PARK, H. J. et al. Changes in bovine enamel after treatment with a 30% hydrogen peroxide bleaching agent. **Dent. Mater. J.**, v. 23, n. 4, p. 517-521, dec. 2004.
- 2- BARATIERI, L. N. et al. Clareamento Dental. **Quintessence**, 1993; 1ª ed.
- 3- COHEN, S. C. Human pulpal response to bleaching procedures on vital teeth. **J. Endod.**, v. 5, n. 5, p. 134-138, may. 1979.
- 4- BENETTI, A. R. et al. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. **Int. Endod. J.**, v. 37, n. 2, p. 120-124, feb. 2004.
- 5- COOPER, J. S.; BOKMEYER, T. J.; BOWLES, W. H. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. **J. Endod.**, v. 18, n. 7, p. 315-317, jul. 1992.
- 6- Gökay, O. et al. Radicular peroxide penetration from carbamide peroxide gels during intracoronal bleaching. **Int. Endod. J.**, v. 41, n. 7, p. 556-560, jul. 2008.
- 7- SULIEMAN, M. et al. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. **J. Dent.**, v. 33, n. 1, p. 33-40, jan. 2005.
- 8- OWENS, B. M. et al. Postoperative dental bleaching: effect of microleakage on Class V tooth colored restorative materials. **J Tenn Dent Assoc.**, v. 78, n. 4, p. 36-40, oct. 1998.
- 9- GOKAY, O. et al. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. **J. Endod.**, v. 24, n. 2, p. 92-94, feb. 2000.
- 10- GOKAY, O.; TUNCBILEK, M.; ERTAN, R. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents on teeth restored with a composite resin. **J. Oral Rehabil.**, v. 27, n. 5, p. 428-431, may. 2000.
- 11- TIRAPELLI, C. **Avaliação de eficácia de um biomaterial e conhecidos agentes dessensibilizantes no tratamento da hipersensibilidade dentinária—estudo in vitro e in vivo**. 2005. Tese - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

- 12- ANDRADE, A. P. **Monitoring de-remineralization process on human enamel during and after dental bleaching**. 2009. Tese - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- 13- CAMARGO, S. E. A. Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique. **J. Endod.**, v. 33, n. 9, p. 1074-1077, sep. 2007.
- 14- MOTTOLA, H. A.; SIMPSON, B. E.; GORIN, G. Absorptiometric determination of hydrogen peroxide in submicrogram amounts with leuco crystal violet and peroxidase as catalyst. **Analy. Chem.**, v. 42, n. 3, p. 410-411, 1970.
- 15- SCHILKE, R. et al. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. **Arch. Oral Biol.**, v. 45, n. 5, p. 355-361, may. 2000.
- 16- SCHILKE, R. et al. Bovine dentin as a substitute for human dentin in shear bond strength measurements. **Am. J. Dent.**, v.12, n.2, p. 92-96, apr. 1999.
- 17- AMARAL, F. B. et al. Assessment of in vitro methods used to promote adhesive interface degradation: a critical review. **J. Esthet. Restor. Dent.**, v. 19, n. 6, p.340-354, 2007.
- 18- ISO – guidance on testing of adhesion to tooth structure. International Organization for Standardization. TR 11450, 1-14. Geneva (Switzerland): 1994.
- 19- GALE, M. S.; DARVELL, B. W. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental materials restorations. **J. Dent.**, v. 27, n. 2, p. 89-99, feb. 1999.
- 20- HUANG, C. Higroscopic expansion of a compomer and a composite on artificial gap reduction. **J. Dent.**, v. 30, n. 1, p. 11-19, jan. 2002.
- 21- NAKABAYASHI, N.; SAIMI, Y. Bonding to intact dentin. **J. Dent. Resear.**, v. 75, n. 9, p. 1706-1715, 1996.

22- SANO, H. et al. Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. **Oper. Dent.**, v. 20, n. 1, p. 18-25, 1995.

23- TAY, F. R.; PASHLEY, D. H. Have dentin adhesives become too hydrophilic? **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 69, n. 11, p. 726-731, dec. 2003.

24 - BARACCO, B. et al. Effect of thermal aging on the tensile bond strength at reduced areas of seven current adhesives. **Odontology.**, v. 101, n. 2, p. 177-185, jul. 2013.

ANEXO A – Valores das absorbâncias dos devidos grupos antes e após a ciclagem térmica

Quadro 1 - Valores das absorbâncias do grupo I (espécimes hígidos) antes da ciclagem térmica.

Espécime	Absorbância (25µl)	Absorbância (100µl = 4x25µl)
1	1,691	6,764
2	1,834	7,336
3	1,721	6,884
4	1,768	7,072
5	1,774	7,096
6	1,768	7,072
7	1,628	6,512
8	1,845	7,380
9	1,623	6,492
10	1,793	7,172
11	1,817	7,268
12	1,683	6,732
13	1,726	6,904
14	1,845	7,380
15	1,856	7,424

Quadro 2 - Valores das absorvâncias do grupo II (espécimes sem material restaurador) antes da ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,872	7,488
2	1,909	7,636
3	1,900	7,600
4	1,872	7,488
5	1,852	7,408
6	1,888	7,552
7	1,872	7,488
8	1,880	7,520
9	1,896	7,584
10	1,872	7,488
11	1,909	7,686
12	1,896	7,584
13	1,796	7,184
14	1,896	7,584
15	1,845	7,380

Quadro 3 - Valores das absorvâncias do grupo III (espécimes restaurados com resina composta) antes da ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,487	5,948
2	1,567	6,268
3	1,567	6,268
4	1,444	5,776
5	1,490	5,960
6	1,702	6,808
7	1,710	6,840
8	1,565	6,260
9	1,474	5,896
10	1,683	6,732
11	1,762	7,048
12	1,524	6,096
13	1,597	6,388
14	1,777	7,108
15	1,371	5,484

Quadro 4 - Valores das absorvâncias do grupo IV (espécimes restaurados com ionômero de vidro modificado por resina) antes da ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,540	6,160
2	1,587	6,348
3	1,533	6,132
4	1,478	5,912
5	1,574	6,296
6	1,440	5,760
7	1,428	5,712
8	1,502	6,008
9	1,517	6,068
10	1,544	6,176
11	1,470	5,880
12	1,450	5,800
13	1,444	5,776
14	1,467	5,868
15	1,583	6,332

Quadro 5 - Valores das absorvâncias do grupo V (espécimes com adesivo autocondicionante) antes da ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,273	5,092
2	1,331	5,324
3	1,214	4,856
4	1,382	5,528
5	1,378	5,512
6	1,531	6,124
7	1,610	6,440
8	1,214	4,856
9	1,291	5,164
10	1,557	6,228
11	1,418	5,672
12	1,490	5,960
13	1,291	5,164
14	1,462	5,916
15	1,462	5,848

Quadro 6 - Valores das absorvâncias do grupo I (espécimes hígidos) após a ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,806	7,223
2	1,689	6,757
3	1,588	6,352
4	1,938	7,753
5	1,575	6,302
6	1,921	7,683
7	1,494	5,976
8	1,597	6,387
9	1,529	6,116
10	2,026	8,104
11	1,921	7,683
12	1,873	7,493
13	1,374	5,496
14	2,015	8,059
15	1,326	5,306

Quadro 7 - Valores das absorvâncias do grupo II (espécimes sem material restaurador) após a ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,805	7,220
2	1,761	7,043
3	1,805	7,220
4	1,737	6,947
5	1,767	7,067
6	1,717	6,867
7	1,785	7,140
8	1,862	7,448
9	1,779	7,116
10	1,877	7,508
11	1,808	7,232
12	1,752	7,007
13	1,862	7,448
14	1,696	6,783
15	1,709	6,835

Quadro 8 - Valores das absorvâncias do grupo III (espécimes restaurados com resina composta) após a ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,701	6,803
2	1,712	6,847
3	1,749	6,995
4	1,593	6,371
5	1,595	6,379
6	1,737	6,947
7	1,621	6,483
8	1,553	6,211
9	1,792	7,168
10	1,792	7,168
11	1,773	7,091
12	1,518	6,070
13	1,728	6,911
14	1,670	6,679
15	1,637	6,547

Quadro 9 - Valores das absorvâncias do grupo IV (espécimes restaurados com ionômero de vidro modificado por resina) após a ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,445	5,778
2	1,555	6,219
3	1,463	5,850
4	1,740	6,959
5	1,712	6,847
6	1,726	6,903
7	1,663	6,651
8	1,605	6,419
9	2,816	11,265
10	1,550	6,199
11	1,706	6,823
12	1,509	6,034
13	1,548	6,191
14	1,755	7,019
15	1,292	5,168

Quadro 10 - Valores das absorvâncias do grupo V (espécimes com adesivo autocondicionante) após a ciclagem térmica.

Espécime	Absorvância (25µl)	Absorvância (100µl = 4x25µl)
1	1,806	7,223
2	1,689	6,757
3	1,588	6,352
4	1,938	7,753
5	1,575	6,302
6	1,921	7,683
7	1,494	5,976
8	1,597	6,387
9	1,529	6,116
10	2,026	8,104
11	1,921	7,683
12	1,873	7,493
13	1,374	5,496
14	2,015	8,059
15	1,326	5,306