



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**CÂMPUS DE ARAÇATUBA – FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE DENTÍSTICA**

**CLAREAMENTO DENTÁRIO COM LED VIOLETA:
EFEITOS NA ALTERAÇÃO CROMÁTICA, RESISTÊNCIA
DE UNIÃO, NANODUREZA DA CAMADA HÍBRIDA E
RESISTÊNCIA DO COLÁGENO**

**Araçatuba
2019**

Ana Carolina Souza Barboza

**CLAREAMENTO DENTÁRIO COM LED VIOLETA:
EFEITOS NA ALTERAÇÃO CROMÁTICA, RESISTÊNCIA
DE UNIÃO, PROPRIEDADES MECÂNICAS DA CAMADA
HÍBRIDA E RESISTÊNCIA DO COLÁGENO**

ARAÇATUBA - SP
2019

Ana Carolina Souza Barboza

**CLAREAMENTO DENTÁRIO COM LED VIOLETA:
EFEITOS NA ALTERAÇÃO CROMÁTICA, RESISTÊNCIA
DE UNIÃO, NANODUREZA DA CAMADA HÍBRIDA E
RESISTÊNCIA DO COLÁGENO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Concentração em Dentística.

Orientador: *Prof. Adj. André Luiz Fraga Briso*

Co-orientador: *Prof. Adj. Paulo Henrique dos Santos*

ARAÇATUBA - SP
2019

Catlogação na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B239c Barboza, Ana Carolina Souza.
Clareamento dentário com LED violeta : efeitos na alteração cromática, resistência de união, nanodureza da camada híbrida e resistência do colágeno / Ana Carolina Souza Barboza. - Araçatuba, 2019
86 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. André Luis Fraga Briso
Coorientador: Prof. Paulo Henrique dos Santos

1. Clareamento dental 2. Dureza 3. Colágeno I. Título

Black D2
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

Dedicatória

À Deus,

Representa tudo em minha vida, sem o seu Espírito nada faz sentido!
O Senhor me deu propósitos, alegrias e me mostrou que sua graça me basta.
Hoje eu consigo entender profundamente o que isso significa, tudo e todos
que eu amo podem passar, mas se a sua presença permanecer em mim, eu
serei feliz. Obrigada por ser o meu pai, e por me direcionar no caminho dos
meus sonhos. Eu te amo de todo o meu coração.

Aos meus pais,

Adeilson César Barboza (*in memoriam*) e Luciana Souza Barboza,

Obrigada por sonharem com meu futuro, nunca medirem esforços
para me ver crescer, serei eternamente grata pela confiança que depositaram
em mim, e por serem meus maiores exemplos de vida, de amor e fé.

Pai, hoje você não está aqui, mas pôde ver parte dos meus sonhos se
realizarem, e um dia, por causa de seus ensinamentos, sei que nos
reencontraremos juntos de Deus, nosso Senhor. A falta que me faz é muito
grande, e sempre vou imaginar como seria se você tivesse visto minha
formatura, meu casamento, meu mestrado, como seria se meus futuros filhos
convivessem com você ... Não tem um dia que eu não pense em você, mas você
me ensinou que a vida eterna é mais importante do que essa, e hoje consigo
continuar por também acreditar nisso. Me apego naquele verso que diz:
“Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou o coração

humano, o que Deus tem preparado para aqueles que O amam.” 1 Coríntios 2.9 Eu te amo muito.

Minha mãe, obrigada por sempre estar comigo, agradeço por ser minha melhor amiga e acreditar em mim, mais do que eu mesma. Você é muito forte e uma pessoa que eu admiro demais, é firme, resiliente, e sempre faz tudo por nós. Eu te amo muito. Agradeço a Deus por você ser tão boa, e por termos um relacionamento tão próximo.

Ao meu irmão,

Murilo César

Por sempre me ajudar, compartilhar os momentos bons e difíceis, e por ser meu amigo, além de irmão. Você foi o maior presente de Deus em minha vida, meu primeiro grande sonho realizado.

Ao meu marido,

Isak Haber

Obrigada por todo apoio e confiança, pela amizade e amor que me proporcionou desde que nos conhecemos, agradeço por escolher viver e sonhar comigo o nosso futuro. Eu te amo, e sou muito feliz por poder passar essa vida com você.

Aos meus avós,

João e Osmarina - Edson e Aparecida,

Obrigada por sempre fazerem de tudo para me ver feliz, por me tratarem com tanto amor e dedicação, cada um com sua característica, mas sempre fazendo o possível e o impossível para me agradar. Amo muito vocês. Agradeço a Deus pela família que tenho.

Aos meus familiares,

Tios, tias, primos e amigos pela força, apoio e palavras de afirmação que me deram e assim sempre me incentivaram. Em minha vida vocês tias são como mãe, tios como pai, e primos como irmãos.

Ao meu padrasto,

Miguel Fernandes

Você chegou em nossa família para somar, obrigada pelo homem bom que é para todos nós.

Agradecimentos Especiais

Ao meu orientador,

André Luiz Fraga Briso

Agradeço de coração pela oportunidade de fazer parte de sua equipe, pela paciência em ensinar e por ser um orientador tão próximo e disponível para ajudar. Eu o admiro muito por sua competência e inteligência, o senhor é um grande professor, pesquisador, profissional e incentivador. Obrigada por tudo!

Ao meu co-orientador,

Paulo Henrique dos Santos

Obrigada professor por sempre podermos contar com o senhor, pela disponibilidade em acrescentar conhecimento em nossos projetos e nos ajudar sempre que preciso.

À professora **Ticiane Cestari Fagundes Tozzi,**

Minha primeira orientadora, agradeço pela oportunidade de me orientar durante a iniciação científica, pela sensibilidade que teve por mim e minha família em momentos difíceis. Eu tenho um carinho muito especial pela senhora, além de grande admiração pela profissional que é, obrigada por tudo!

Aos meus amigos de pós graduação,

Mariana Moda

Está comigo desde a graduação, por isso foi minha primeira grande amiga na pós. Agradeço por sua amizade, apoio e ajuda, saiba que aprendi muito com você, seu potencial é enorme e sei que onde você quiser chegar, você chegará. Muito sucesso minha amiga.

Marjorie Gallinari

Basicamente a líder das brisetas, uma pessoa incrível e com grandes talentos, que sempre tem algo a acrescentar seja nas pesquisas ou na vida pessoal. Você é uma grande amiga, sentirei sua falta em Araçatuba, mas torço para que você viva muito mais do que tudo que sonhou!

Morganna Almeida

Sempre muito parceira e disposta a ajudar a todos que precisam, não só no departamento de pesquisa como na vida, você é muito especial e querida por mim e por minha família. Te desejo todo sucesso e alegria nessa nova fase que está iniciando em sua vida.

Ao eterno M1 (Caio Pavani, Isis Hoshino e Glúvia Queiroz)

Foi muito bom conviver e trabalhar com vocês, obrigada pelos casos de pacientes, fotos e aulas que fizemos juntos, aprendi muito com vocês, tenho muito carinho por todos e desejo muito sucesso.

Às novas Brisetes (**Lara, Lívia e Sibeles**)

Amigas doces e especiais, vocês vieram para alegrar ainda mais o departamento e fortalecer a equipe. Gosto muito de vocês!

À querida IC **Luana do Vale**

Obrigada por sempre poder contar realmente com você, te admiro por sua competência e responsabilidade, você foi de grande contribuição para a realização dos projetos que participamos, sempre muito engajada em dar o seu melhor e fazer tudo dar certo, mesmo que fosse necessário repetir os testes quatro vezes. Você será recompensada, pela vida e por Deus. Gosto muito de você, minha amiga.

Aos colegas **Diego Mardegan, Fernanda Ramos e Fabrício Guarnieri**

Obrigada pela amizade, convivência e disposição em ajudar, sempre que precisarem podem contar comigo.

Aos doutorandos **Henrico Strazzi e Bruna Reis**

Agradeço pela contribuição e ajuda que me ofereceram para a execução do meu projeto. Gosto muito de vocês e desejo muito sucesso, profissional e pessoal.

Agradecimientos

À **Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP**, ao diretor Prof. Tit Wilson Roberto Poi, e ao vice-diretor Prof. Associado João Eduardo Gomes Filho, pela gentileza e atenção com que nos recebem.

Ao **coordenador do curso de Pós-Graduação em Odontologia, Prof. Associado André Luiz Fraga Briso**, que é também meu orientador, pelo seu empenho para que possamos ter uma formação de pós-graduação de excelência.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da bolsa de mestrado (processo nº 2017/07000-7) e por todo suporte financeiro indispensável para realização deste trabalho.

Às **funcionárias da Seção de Pós-Graduação**, Cristiane Lui, Lilian Mada e Valéria Zagato, por todo o suporte, paciência e atenção com que nos tratam.

Aos **bibliotecários**, por estarem sempre dispostos a nos ajudar. Obrigada por todo o valioso apoio prestado.

A todos **professores** do curso de Pós-Graduação, pela oportunidade de aprendizado constantes.

Aos **alunos da turma de pós-graduação em Odontologia**, pelas experiências compartilhadas ao longo de todo o curso.

Aos **professores da disciplina de Dentística**,

Prof. Dr. André Luiz Fraga Briso, Prof. Dr. Renato Herman Sundfeld, Prof. Dr. Ricardo Coelho Okida, Prof. Dr. Sílvio José Mauro, Profa. Dra. Ticiane Cestari Fagundes. Muito obrigada por ter o privilégio de conviver e aprender com cada um de vocês.

Ao **funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora**, Nelci Vieira, Peterson Moura, Jorge Trevelim e Carlos Suetake. Pela convivência durante essa caminhada, por sempre estarem dispostos a nos ajudar, por fazer nossos dias mais agradáveis. Muito obrigada!

Ao **Departamento de Odontologia Restauradora**, e todos que fazem parte desse departamento, tornando um lugar agradável de se trabalhar e conviver.

Aos Prof. Associado **Alberto Carlos Botazzo Delbem**, do programa de Pós-graduação em Ciência Odontológica, pela autorização para que eu pudesse utilizar instrumentais do laboratório de Odontopediatria. Muito obrigada!

Ao **Dr. André Assmann**, do Departamento de física da Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, técnico responsável pelo equipamento Nanoindenter, pelo auxílio na execução do teste de nanoindentação e módulo de elasticidade da camada híbrida, e toda a atenção e suporte prestados, de suma importância para a realização deste trabalho.

Ao **Laboratório de Microscopia Eletrônica**, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, pela disponibilidade na realização da microscopia eletrônica de varredura, tão importante nesse trabalho.

À professora **Cristina de Mattos Pimenta Vidal**, da Universidade de Illinois, Chicago, pelo auxílio durante a definição da metodologia empregada no teste de resistência coesiva do colágeno. Obrigada pela atenção, reuniões via Skype e disposição em nos ajudar.

Aos professores da banca de qualificação, representada pelo **Profa. Adj. Maria Cristina Rosefini e Profa. Ass. Dra. Ticiane Cestari Fagundes**. Muito obrigada por terem aceito meu convite e contribuído com o trabalho apresentado

Aos professores da banca examinadora, representada pelo professor **Renato Herman Sundfeld** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (UNESP) e Professora **Larissa Sgarbosa Araújo Matuda** da Faculdade de

Odontologia de Presidente Prudente (UNOESTE). Agradeço por terem aceito o convite e pelas considerações enriquecedoras para o trabalho.

Epígrafe

“Porque sou eu que conheço os planos que tenho para vocês, diz o Senhor, planos de fazê-los prosperar e não de lhes causar dano, planos de dar-lhes um futuro cheio de esperança.”

Jeremias 29:11

Resumo

BARBOZA, A.C.S. **Clareamento dentário com LED violeta: Efeitos na alteração cromática, resistência de união, nanodureza da camada híbrida e resistência do colágeno** [Dissertação]. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; Araçatuba, 2019.

Resumo

O propósito deste projeto foi investigar a alteração cromática, resistência de união de restaurações resinosas à dentina, bem como analisar nanodureza da camada híbrida e a resistência coesiva do colágeno dentinário, após realização de diferentes técnicas clareadoras. Para tanto, 75 dentes bovinos foram aleatoriamente distribuídos: Grupo controle; Grupo LED e Grupo GEL. Em seguida, 45 dentes (n=15) foram destinados à análise da alteração cromática, sendo posteriormente preparados, restaurados e seccionados em palitos. Metade das amostras foram submetidas aos testes de resistência de união e propriedades mecânicas da camada híbrida, o restante sofreu 10000 ciclos térmicos antes das avaliações. Os 30 dentes remanescentes foram empregados na análise da resistência coesiva do colágeno (n=10), que foi realizada imediatamente após a realização dos tratamentos clareadores, bem como após a ação da colagenase. Os dados obtidos da cor, resistência de união, propriedades mecânicas e resistência coesiva do colágeno foram analisados quanto à normalidade utilizando o teste Shapiro-Wilk e submetidos ao teste ANOVA dois fatores com medidas repetidas e pós teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Houve alteração cromática em Grupo LED e GEL, com maiores alterações de ΔE , ΔL e Δb em GEL. No teste de adesão somente a termociclagem interferiu nos resultados, apresentando menores valores em todos os grupos. Valores de nanodureza e módulo de elasticidade permaneceram inalterados após os tratamentos ($p>0,05$), enquanto que no teste de resistência coesiva do colágeno, na análise imediata o Grupo GEL apresentou diferença do controle, apresentando menores valores, sendo LED semelhante à ambos. Avaliando os grupos após degradação enzimática, observa-se o

mesmo comportamento. Todos os grupos sofreram influência da degradação enzimática ($p < 0,05$), com menores valores de resistência após o desafio. Portanto, o emprego do LED violeta apresentou alteração cromática, porém, em menor intensidade que o uso de géis à base de peróxidos. Não houve alterações nas propriedades mecânicas e adesivas, no entanto, houve menor resistência coesiva do colágeno após o tratamento com gel, bem como, após degradação enzimática em todos os grupos avaliados.

Palavras – chave: Clareamento Dental, dureza, colágeno.

Abstract

BARBOZA, A.C.S. Dental bleaching with violet light: Effects on color change, bonding strength, nanohardness of hybrid layer and collagen strength. [Dissertação]. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; Araçatuba, 2019.

Abstract

The aim of this project was to investigate the chromatic alteration, bond strength of dentin resin restorations, as well as to analyze the nanohardness of the hybrid layer and the cohesive strength of dentin collagen, after performing different bleaching techniques. For this, 75 bovine teeth were randomly distributed: Control group; LED Group and GEL Group. Then, 45 teeth ($n = 15$) were destined to the analysis of the color change, being subsequently prepared, restored and sectioned on sticks. Half of the samples were submitted to the bond strength and mechanical properties tests of the hybrid layer, the remaining 10000 thermal cycles before the evaluations. The remaining 30 teeth were used to analyze collagen cohesive resistance ($n = 10$), which was performed immediately after bleaching treatments, as well as after collagenase action. The data obtained on color, bond strength, mechanical properties and collagen cohesive resistance were analyzed for normality using the Shapiro-Wilk test and submitted to the two-way ANOVA test with repeated measures and Tukey test ($\alpha = 0.05$). There was chromatic alteration in LED and GEL Group, with larger alterations of ΔE , ΔL and Δb in GEL. In the adhesion test only thermocycling interfered in the results, presenting lower values in all groups. Nanohardness and modulus of elasticity values remained unchanged after the treatments ($p > 0.05$), while in the collagen cohesive resistance test, in the immediate analysis the GEL Group presented a control difference, presenting

lower values, being \LED similar to both. . Evaluating the groups after enzymatic degradation, the same behavior is observed. All groups were influenced by enzymatic degradation ($p < 0.05$), with lower resistance values after challenge. Therefore, the use of violet LED showed chromatic alteration, however, to a lesser extent than the use of peroxide-based gels. There were no changes in mechanical and adhesive properties, however, there was less cohesive collagen resistance after gel treatment, as well as after enzymatic degradation in all groups evaluated. after enzymatic degradation in all groups evaluated.

Keywords: Tooth bleaching, Hardness, Collagen.

Listas e Sumário

Lista de Figuras

- Figura 1.** (A) Secção transversal do dente bovino na junção amelocementária para separação da coroa e raiz (B) Coroa dentária. **43**
- Figura 2.** Espécimes representativos dos grupos de estudo: (A) Grupo I- Controle; (B) Grupo II- LED violeta; (C) Grupo III- Gel clareador. **45**
- Figura 3.** (A e B) Espécime com sua respectiva moldeira individual. (C) Aparelho espectrofotômetro Easyshade (Vita-Zahnfabrik, Alemanha), no modo de cores CIE L*a*b*. **46**
- Figura 4.** Sequência restauradora utilizada no preparo das amostras **48**
- Figura 5.** (A) Espécime posicionado em base de acrílico perpendicular ao disco em cortadeira metalográfica, Isomet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA); (B) Palitos obtidos após secções transversais e horizontais **49**
- Figura 6.** (A) Palito posicionado em *stubs* metálicos para serem submetidos à microtração; (B) máquina de ensaios universal Odeme Microtensile OM 100 (Odeme Dental Research, Luzerna, SC, Brasil). **50**
- Figura 7.** (A) Matriz metálica utilizada para embutir as amostras em resina; (B) Bloco de resina com palitos posicionados em seu interior; (C) Lixas para polimento, com granulações 320, 600, 800 e 1200, respectivamente; (D) Soluções diamantadas de 6, 3, 1 e 0.5µm (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). **52**
- Figura 8.** (A) Amostras em forma de ampulhetas sendo desmineralizadas na região central com ácido fosfórico 37%. (B) Rx dos espécimes após desmineralização **54**
- Figura 9.** (A) Fatia posicionada em *stubs* metálicos utilizando cola à base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of America, Corona, CA) (B) Fatia de dentina tracionada em máquina de ensaio universal Odeme Microtensile OM 100 (Odeme Dental Research, Luzerna, SC, Brasil). **54**
- Figura 10.** Microscopia eletrônica de varredura do espécime do grupo GIII do teste realizado em dentina, antes da ciclagem térmica. Observa-se que houve fratura coesiva em dentina, podendo observar os túbulos dentinários (seta). Aumento de 1000x. **63**

Figura 11. Microscopia eletrônica de varredura do espécime do grupo GI do teste realizado em dentina, após ciclagem térmica. Observa-se que houve fratura adesiva, podendo ser observada a presença de túbulos dentinários preenchidos por tags resinosos (seta). Aumento de 1000x. **63**

Figura 12. Imagem representativa da interface adesiva de um espécime do grupo GI, destinado ao teste de nanodureza. Regiões numeradas representam o local de realização da nanoindentação (camada híbrida), asterisco representa dentina, podendo observar os túbulos dentinários, enquanto que a seta está indicando o material restaurador. Aumento de 1000x. **65**

Figura 13. Microscopia eletrônica de varredura do espécime de dentina desmineralizado e clareado, antes da degradação enzimática com collagenase bacteriana, sendo possível observar a malha de colágeno. Aumento de 2000x. **66**

Lista de Tabelas

Tabela 1. Média e desvio padrão da variação de cor (ΔE), em diferentes tempos analisados.	59
Tabela 2. Média e desvio padrão dos valores de ΔL , em diferentes tempos analisados.	60
Tabela 3. Média e desvio padrão dos valores de Δa^* , ao longo do experimento.	60
Tabela 4. Média e desvio padrão dos valores de Δb^* , em diferentes tempos analisados.	61
Tabela 5. Valores de média e desvio padrão da resistência de união, através do teste de microtração, antes e após termociclagem.	61
Tabela 6. Valores de média e desvio padrão da nanodureza, antes e após termociclagem.	64
Tabela 7. Valores de média e desvio padrão do módulo de elasticidade, antes e após termociclagem.	64
Tabela 8. Valores de média e desvio padrão da resistência do colágeno dentinário, antes e após degradação enzimática, utilizando colagenase bacteriana.	66

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Representação gráfica da incidência (%) dos tipos de fraturas observadas nos grupos de tratamentos nos testes em dentina, antes da termociclagem. **62**

Gráfico 2. Representação gráfica da incidência (%) dos tipos de fraturas observadas nos grupos de tratamentos nos testes em dentina, após termociclagem. **62**

Lista de Fluxograma

Fluxograma 1. Distribuição dos dentes de acordo com os tratamentos e análises. **42**

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

°C = grau Celsius
Δ= delta
± = mais ou menos
% = percentagem
X = vezes
μL= microlitro
μm = micrômetro
μN= micronewton
A= área
ANOVA = Análise da variância
Ass = Assistente
CEP = Comitê de Ética e Pesquisa
Cm= centímetros
Dr = Doutor
Dra = Doutora
Er= módulo de elasticidade
EROs= espécies reativas de oxigênio
EUA = Estados Unidos da América
et al. = e colaboradores
F= carga
g= grama
H= dureza
L= Litro
Ltda = limitada
MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura
mL= mililitros
mm = milímetro (unidade de medida equivalente a 10⁻³m)
mmol= milimol
MMP = metaloproteinase
Mn = MiliNewtons
min = minutos
MPa = Megapascal
MW= megawatt
n= número de amostras
N= newton
n° = número
nm = nanômetro
Prof. = Professor

Profa = Professora
RC= resistência do colágeno
RJ = Rio de Janeiro
Rpm = rotações por minuto
Ru= resistência de união
s = segundo
SP = São Paulo
UNESP = Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Sumário

Resumo	21
Abstract	24
1. Introdução	35
2. Materiais e Método	40
3. Análise Estatística	56
4. Resultados	58
5. Discussão	67
6. Conclusão	76
Referências Bibliográficas	82
Anexos	90

1. Introdução

Introdução

A Odontologia moderna tem desenvolvido técnicas e materiais capazes de suprir a necessidade que temos em proporcionar sorrisos perfeitos. É considerável o número de pessoas que se submetem a diferentes tratamentos odontológicos, objetivando melhorar a aparência do sorriso, deixando os dentes claros, alinhados e harmônicos. Dentre os tratamentos mais procurados, destaca-se o clareamento dentário, sendo considerado uma opção esteticamente eficiente, realizado em um tempo relativamente curto e com baixo custo.¹

A técnica do clareamento dental consiste em remover pigmentações intrínsecas localizadas, principalmente, no tecido dentinário, que devido à translucidez do esmalte dentário compromete a estética do sorriso.² Dentre as principais formas de se obter o clareamento dentário, destaca-se a técnica caseira (*at home*) e a realizada em consultório pelo profissional (*in office*).^{3; 4; 5}

Independente da técnica, o mecanismo de ação dos produtos clareadores baseia-se na permeação do peróxido de hidrogênio e de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) através do esmalte e da dentina, seguido de suas reações com moléculas cromóforas clivando-as, alterando suas configurações e propriedades ópticas, o que resulta na percepção de um dente mais claro, uma vez que a reflexão de luz se torna maior que sua

absorção.^{5; 6; 7} Apesar do clareamento dentário ser considerado um tratamento bem aceito por profissionais e pacientes, existem efeitos colaterais que devem ser considerados, uma vez que o peróxido apresenta ação inespecífica, não se limitando às moléculas cromóforas, atingindo também a polpa dentária, o que pode resultar em danos teciduais.^{8; 9; 10; 11} Neste contexto, tem sido reportado que as técnicas clareadoras podem estar associadas desde a ocorrência de hipersensibilidade transitória e leve, até uma inflamação severa ou mesmo a necrose tecidual.^{12; 13; 14; 15}

Mesmo assim, algumas terapias utilizadas preconizam a associação do uso de géis à diferentes fontes luminosas, com o intuito de aumentar a eficácia do tratamento clareador.^{8; 13} Essas associações são realizadas diante da hipótese de que parte da luz incidente no produto clareador seja convertida em calor, intensificando a liberação de EROs, o que promoveria maior eficácia da técnica.^{16; 17} No entanto, essas associações podem potencializar em demasia ação do EROs e estimular uma exagerada difusão dos produtos pelos tecidos, aumentando a intensidade dos efeitos colaterais.^{8; 18}

Além dos efeitos mencionados, os diferentes tratamentos clareadores também influenciam negativamente a adesão de materiais resinosos na estrutura recém clareada.^{19; 20} Vários autores defendem que dentes clareados somente podem receber tratamento restaurador após um período de espera, que varia de 7 a 21 dias em razão da presença de grande quantidade de oxigênio na estrutura dentária, o que comprometeria a polimerização dos materiais resinosos, reduzindo o comprimento dos tags, bem como a resistência de união ao esmalte e à dentina.^{21; 22; 23; 24} Metaloproteinases da dentina (MMPs) produzem degradação do colágeno na interface dentina-resina, comprometendo a eficácia das restaurações, essas MMPs são endopeptidases estruturais que contribuem para a organização e mineralização da matriz da dentina. A relação entre a atividade

colagenolítica da MMP na dentina e a aplicação do agente clareador pode ser um fator que contribui para redução da adesão na dentina clareada [toledano 2011 \(50\)](#).

Desta forma, a possibilidade de clarear dentes com o emprego reduzido ou sem a utilização de peróxidos significaria a quebra de um paradigma e seria revolucionária na odontologia estética, pois os efeitos colaterais anteriormente apresentados poderiam ser pronunciadamente reduzidos.

Neste contexto, uma nova tecnologia baseada na utilização do LED violeta tem sido proposta.²⁵ Esta fonte portátil de luz assemelha-se aos equipamentos normalmente empregados no consultório odontológico, no entanto, emite luz com comprimento de onda de 405 a 410 nm, o que coincide com o pico de absorção dos pigmentos. Desta forma, a estrutura pigmentada, que é altamente receptora da luz, poderia interagir seletivamente com a irradiação violeta, promovendo a quebra das moléculas cromóforas, caracterizando um clareamento por um processo físico.^{25; 26}

Em 2019, Gallinari e colaboradores²⁷ analisaram “in vitro” a alteração cromática proporcionada pelo emprego do LED violeta. Os resultados demonstram que o emprego do LED Violeta poderia ser vantajoso, principalmente quando associado ao uso de peróxidos com concentrações inferiores a 17,5%. Embora ainda não seja possível afirmar, este resultado pode significar um avanço técnico da terapia clareadora, uma vez que resultados estéticos satisfatórios poderão ser obtidos com um menor estresse oxidativo.

Apesar de altamente promissor, a utilização do LED violeta deve ser precedido de muitos estudos. Por atuar diretamente nas moléculas pigmentantes, esta fonte poderia também interferir em outras moléculas orgânicas presentes na estrutura dentária? A

eventual alteração do colágeno poderia influenciar na qualidade da adesão nos procedimentos restauradores?

Sendo assim, o objetivo deste projeto foi investigar o efeito clareador e a resistência de união de restaurações resinosas à dentina, após realização de diferentes técnicas clareadoras (utilização do LED violeta e gel clareador 35%), bem como analisar a nanodureza da camada híbrida e a resistência coesiva do colágeno dentinário por meio de teste de microtração.

Portanto, as hipóteses nulas analisadas são:

- 1- A técnica clareadora não influenciaria na alteração cromática;
- 2- A técnica clareadora não influenciaria a resistência de união por meio do teste de microtração, antes e após o desafio térmico;
- 3- A técnica clareadora não influenciaria a nanodureza e módulo de elasticidade da camada híbrida, antes e após o desafio térmico;
- 4- A técnica clareadora não influenciaria a resistência coesiva do colágeno, antes e após degradação enzimática;

2. Material e Método

Material e Método

Previamente à realização da etapa experimental, o projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA para apreciação, com protocolo de número: 00417/2017.

2.1 Delineamento Experimental

2.1.1 Variáveis de resposta: Resistência de união, nanodureza/módulo de elasticidade da camada híbrida e resistência coesiva do colágeno dentinário.

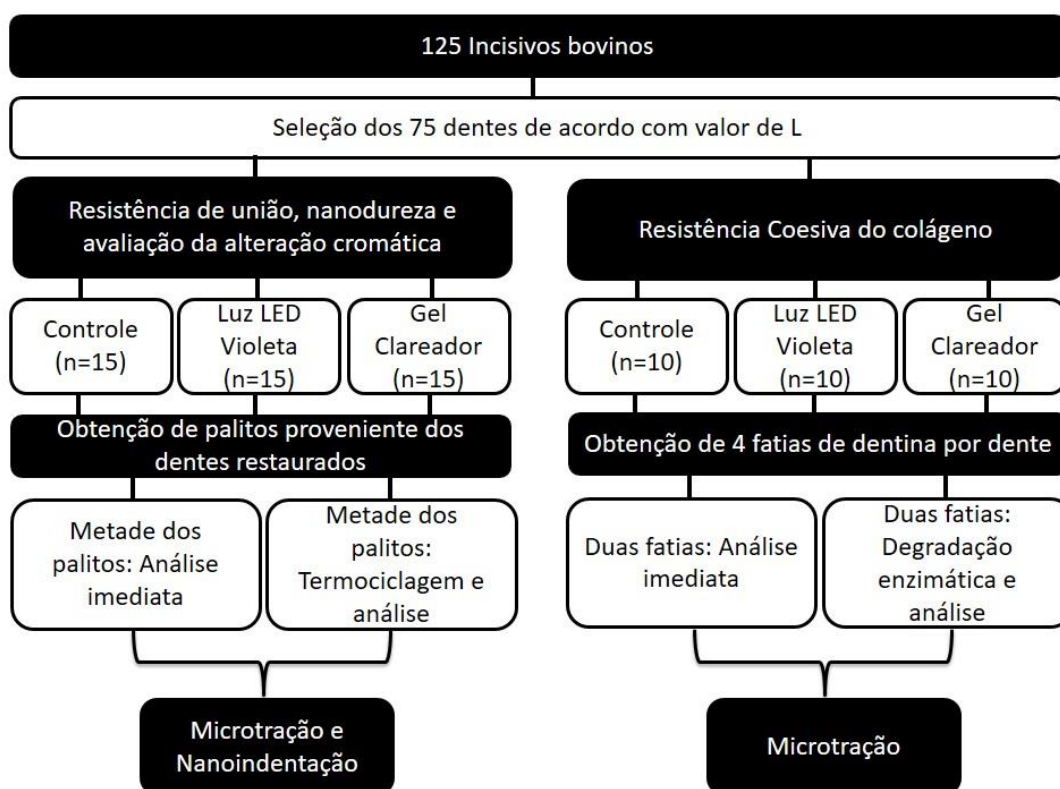
Fatores em estudo: (1) Técnica Clareadora em três níveis (Controle, clareamento com LED violeta e clareamento com gel de peróxido de hidrogênio a 35%); (2) Tempo de análise em dois níveis (inicial e pós-degradação).

2.1.2 Variável de resposta: Eficácia Clareadora.

Fatores em estudo: (1) Técnica Clareadora em três níveis (Controle, clareamento com LED violeta e clareamento com gel de peróxido de hidrogênio a 35%); (2) Tempo de análise em 3 níveis (inicial, 7 e 21 dias pós-clareamento).

A amostragem foi de 75 dentes bovinos, sendo 45 (n=15) destinados à análise de alteração cromática, aos testes de resistência de união e nanodureza da camada híbrida. Os 30 dentes restantes (n=10) foram destinados à análise da resistência coesiva do colágeno. Metade das amostras foram destinadas à análise pós degradação, conforme ilustrado a seguir:

Fluxograma 1. Distribuição dos dentes de acordo com os tratamentos e análises.



2.2 Obtenção dos dentes:

Foram selecionados incisivos bovinos recém-extraídos, que foram limpos com curetas periodontais para remoção de todo tecido aderido. Foram excluídos dentes

apresentando trincas, fraturas e pigmentações extrínsecas, resultando em 125 dentes hígidos, que foram submetidos à profilaxia com auxílio de pedra pomes e água. Na sequência, utilizando discos diamantados dupla-face (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil), montados em peça reta, foi realizada secção transversal do dente, separando a coroa da raiz ao nível da junção amelocementária. Posteriormente, os tecidos pulpares foram removidos e os dentes armazenados em solução de Timol a 0,1%, pH neutro, a 4°C, até o momento de suas utilizações.

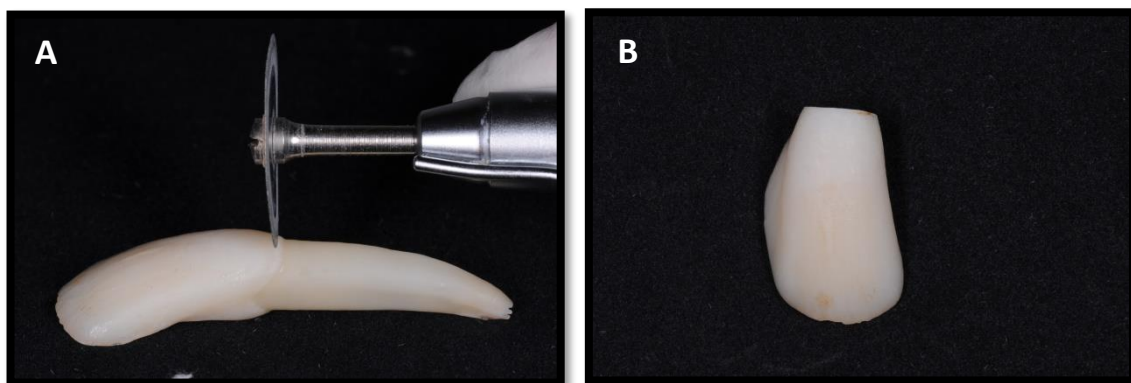


Figura 1.(A) Secção transversal do dente bovino na junção amelocementária para separação da coroa e raiz; (B) Coroa dentária

2.2.1 Seleção dos dentes segundo a sua luminosidade (valor de L)

Após a seleção inicial, os dentes foram submetidos à análise da luminosidade (valor de L), utilizando o aparelho espectrofotométrico Easysshade (Vita-Zahnfabrik, Alemanha), no modo de cores CIE L*a*b*, que permite a especificação de percepções de cores em modelo tridimensionais. Obtidos os valores L, foi calculada a média de toda a amostragem sendo selecionados inicialmente 75 dentes que apresentaram valores de L mais próximos da média, respeitando a tolerância de 5%.²

Objetivando a obtenção de uma superfície plana, as faces palatinas das coroas dentárias foram incluídas em cilindros de resina acrílica (JET, Artigos Odontológicos

Clássico Ltda, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil), mantendo as faces vestibulares expostas e paralelas à base do cilindro, para que a superfície de esmalte fosse polida. Posteriormente, os blocos de resina contendo as coroas dentárias foram posicionados em politriz automática, Aropol E (Arotec Ind. e Com. Ltda, Cotia, São Paulo, Brasil), que atuou com lixas de carbetto de silício de granulação 600 (Extec Corp., Enfield, CT, EUA), sob refrigeração a água, até ocorrer a planificação da superfície do esmalte, para a realização dos tratamentos. Então, os dentes foram divididos de acordo com os grupos experimentais (n=15).

2.2.2 Grupos Experimentais

GI (controle) – As amostras destinadas a este grupo não foram submetidas ao tratamento clareador, permanecendo armazenadas em câmara umidificadora a 37° C.

GII (LED violeta) – Os dentes (n=15) destinados a este grupo, foram submetidos ao tratamento clareador empregando unicamente o LED Violeta (Fotoclareador Bright Maxx Whitening, MMOptics Ltda., São Carlos, SP, Brasil), que emite luz com comprimento de onda de 405-410 nm. A parte ativa do aparelho foi acoplada ao suporte que acompanha o produto, mantendo a fonte luminosa à aproximadamente 8 mm da superfície dentária e com ângulo próximo a 90°. Na sequência o aparelho foi acionado, permanecendo ligado por 45 minutos por sessão, com emissão direta de luz. Foram realizadas 3 sessões clareadoras, sendo uma a cada 7 dias.

GIII (Gel Clareador) - Os 15 dentes foram submetidos à técnica clareadora convencional com gel clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP Maxx - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil). Após a sua manipulação (3 gotas de peróxido de hidrogênio 35%, para uma gota de agente espessante) seguindo

as recomendações de uso do fabricante, o produto foi aspirado por uma micropipeta de líquidos viscosos (Microman M100E, Gilson, Middleton, WI) e 200 μ L foram depositados na superfície do esmalte, permanecendo em contato com o tecido dentário 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 gel clareador. O procedimento foi repetido por 3 vezes com intervalo de 7 dias entre as sessões.

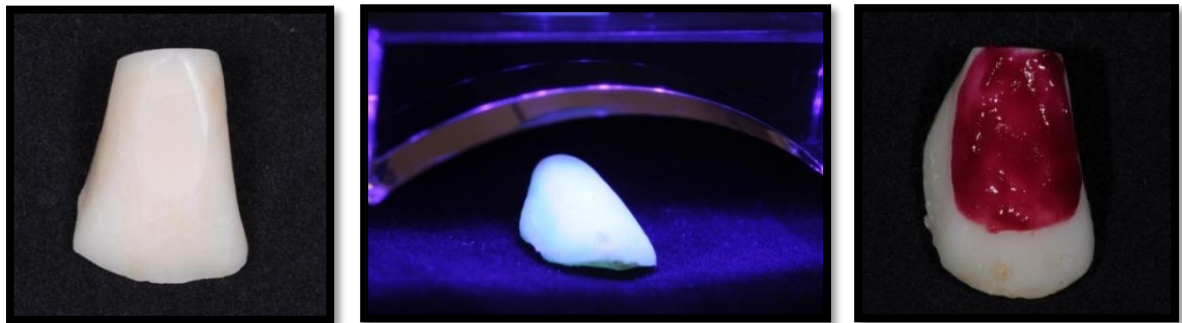


Figura 2. Espécimes representativos dos grupos de estudo: (A) Grupo I- Controle; (B) Grupo II- LED violeta; (C) Grupo III- Gel clareador.

2.3 Preparo das amostras e Métodos de análise

2.3.1 Análise da cor

Com o intuito de padronizar o local da leitura de cor, foi confeccionada uma moldeira individual com auxílio de placas de copolímero Etileno/Acetato de Vinila (FGM Produtos Odontológicos, Joinville, Santa Catarina, Brasil) e plastificadora à vácuo Plastvac P7 (Bio-Art Equipamentos Odontológicos Ltda., São Carlos, São Paulo, Brasil). Após a sua confecção foi realizada uma perfuração na placa no local correspondente à altura do terço médio da coroa do dente bovino, respeitando o diâmetro da ponta do espectrofotômetro EasyShade.

Foram realizadas quatro análises de cor de acordo com a realização dos tratamentos:

T0 - análise inicial da cor dos dentes;

T1- Realizada imediatamente após a 1 sessão do clareamento com LED (GII) e 1 sessão do clareamento convencional (GIII);

T2- Realizada após 7 dias, ou seja após 2 sessões do clareamento com LED (GII) e 2 sessões do clareamento convencional (GIII);

T3- Realizada após 14 dias, ou seja após 3 sessões do clareamento com LED (GII) e 3 sessões do clareamento convencional (GIII);

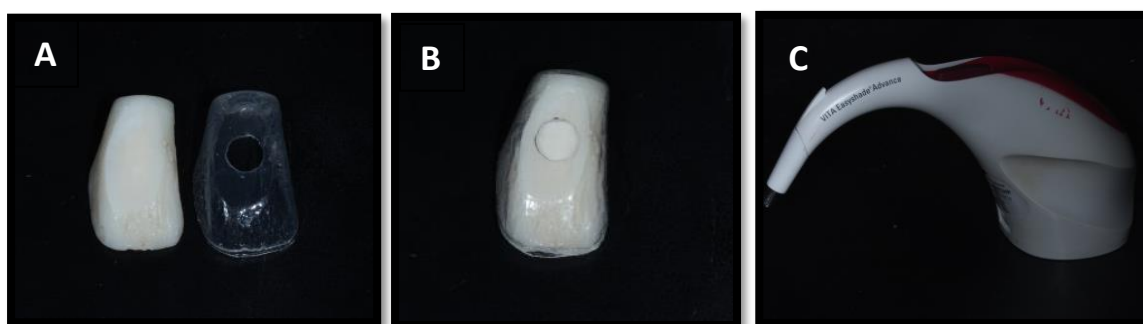


Figura 3. (A e B) Espécime com sua respectiva moldeira individual. (C) Aparelho espectrofotômetro Easyshade (Vita-Zahnfabrik, Alemanha), no modo de cores CIE L*a*b*.

2.4 Resistência de união, nanodureza da camada híbrida e envelhecimento

Após a análise da cor nos diferentes grupos experimentais, foram realizados desgastes com lixa de granulação 600 até exposição de tecido dentinário. Na sequência, foram realizados os procedimentos restauradores, objetivando a realização do teste de resistência de união e nanodureza da camada híbrida.

Objetivando a obtenção de uma superfície dentinária plana, as faces palatinas das coroas dentárias foram incluídas em cilindros de resina acrílica (JET, Artigos Odontológicos Clássico Ltda, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil), mantendo as faces vestibulares expostas e paralelas à base do cilindro, para que a superfície de esmalte fosse removida. Destaca-se que uma canaleta foi confeccionada na base dos cilindros de resina para posterior utilização durante o preparo dentário. Posteriormente, os blocos de resina contendo as coroas dentárias foram posicionados em politriz automática, Aropol E (Arotec Ind. e Com. Ltda, Cotia, São Paulo, Brasil), que atuou com lixas de óxido de alumínio de granulação 600 (Extec Corp., Enfield, CT, EUA), sob refrigeração a água, até ocorrer a exposição de tecido dentinário. Neste momento, objetivando a padronização da profundidade do desgaste, a distância entre o centro do tecido dentinário exposto e a base da resina acrílica foi aferida com auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo Corporation, Tóquio, Japão), posicionado na canaleta anteriormente descrita. Na sequência foi realizado um cuidadoso desgaste, monitorado seguidamente com o paquímetro, até alcançar a profundidade de 1,0 mm além da união amelo-dentinária.

Logo após, foi realizada profilaxia dental seguida do condicionamento com ácido fosfórico a 37% (DENTSPLY Indústria e comercio Ltda – Petropolis/RJ- Brasil) por 15 segundos. A seguir, a superfície foi lavada com jato de ar/água, sendo suavemente seca com jatos de ar, mantendo a umidade inerente ao tecido dentinário. O sistema adesivo Prime & Bond 2.1 (DENTSPLY Indústria e comércio Ltda – Petropolis/RJ- Brasil) foi aplicado conforme as recomendações do fabricante, ou seja, duas camadas consecutivas de adesivo na região condicionada. Após 15 segundos, foi aplicado jatos suaves de ar para evaporação do solvente e o material foi fotoativado por 10 segundos utilizando o aparelho VALO LED (Ultradent, South Jordan – Utah, EUA), que atuou com 1800 mW/cm². Posteriormente foi fixada no centro da face vestibular da coroa uma matriz de silicone de 8mm de diâmetro por 3 mm de largura, a 2 mm da

junção amelocementária das coroas, e a resina composta TPH Spectrum (DENTSPLY Industria e comercio Ltda – Petropolis/RJ- Brasil) foi inserida em seu interior na forma incremental, sendo fotoativada por 40 segundos. Por fim, a matriz plástica foi cuidadosamente removida.

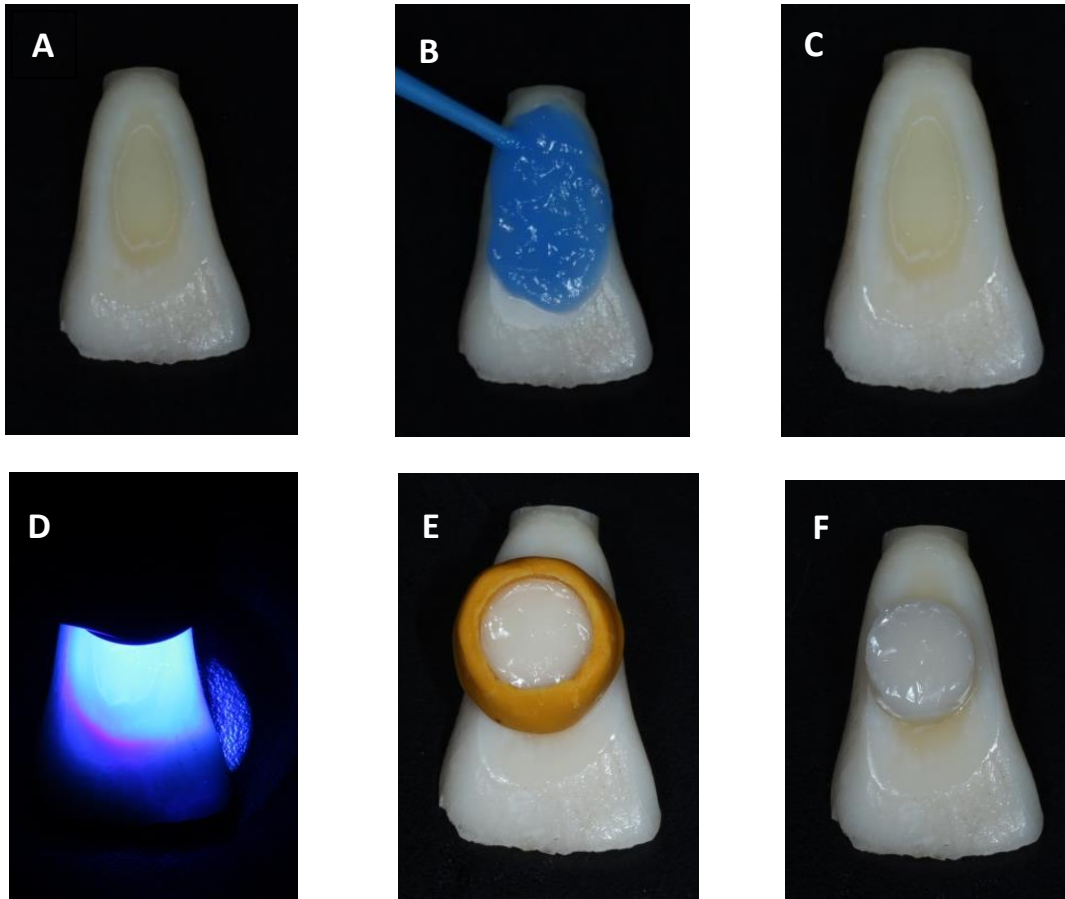


Figura 4. Sequência restauradora utilizada no preparo das amostras:

- (A) Espécime planificado até nível de dentina para receber procedimento restaurador;
- (B) Tratamento superficial com ácido fosfórico a 37% por 15 segundos.
- (C) Aplicação do sistema adesivo Prime & Bond 2.1;
- (D) Fotoativação do adesivo com fonte de luz halógena por 20 segundos;
- (E) Posicionamento da matriz de silicone e resina composta inserida;
- (F) Aspecto final do espécime restaurado.

Na sequência, os dentes restaurados foram fixados em placas de acrílico com cera pegajosa e posicionados em cortadeira metalográfica, Isomet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), para serem submetidos a 3 cortes seriados no sentido inciso-cervical, e mesio-distal, perpendiculares à interface de união dente/resina, empregando velocidade de 250 rpm, sob refrigeração a água, obtendo-se 8 palitos por dente.

Inicialmente, 4 palitos foram destinados aos testes imediatos e, o remanescente, aos testes pós-ciclagem térmica. Dos 4 palitos destinados aos testes iniciais, três foram utilizados no teste de resistência adesiva e 1 ao teste de nanodureza. Da mesma forma, após ciclagem térmica, três palitos foram destinados ao teste de resistência adesiva e 1 para nanodureza da camada híbrida.

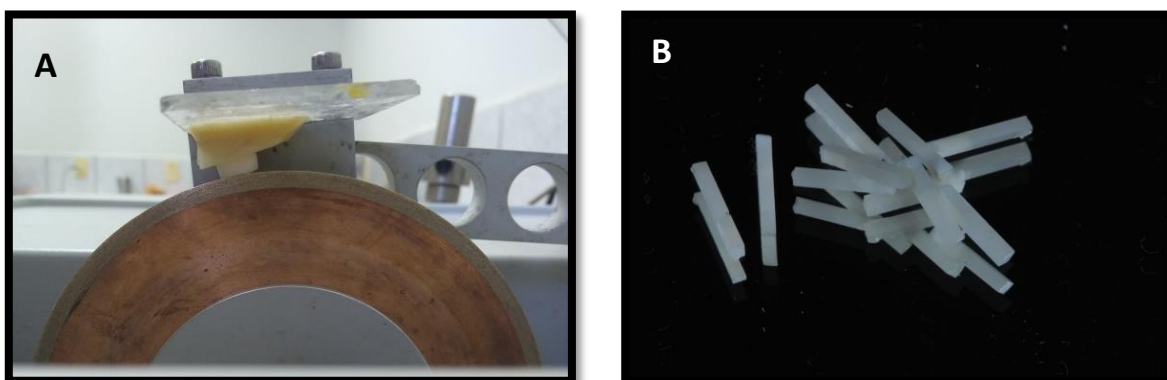


Figura 5. (A) Espécime posicionado em base de acrílico perpendicular ao disco em cortadeira metalográfica, Isomet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA); (B) Palitos obtidos após secções transversais e horizontais.

2.4.1 Avaliação da resistência à microtração

As amostras foram posicionadas em um dispositivo de alumínio bipartido (Figura 6), contendo uma trilha central para o posicionamento dos palitos. Essa trilha em formato de V é produzida pelo mesmo fabricante da máquina de ensaio e garante maior retenção do espécime para o teste. Para isto, as extremidades dos palitos foram

cuidadosamente fixadas no dispositivo, utilizando cola à base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of America, Corona, CA), de tal forma que a interface adesiva ficasse sem qualquer material fixador. Foi adicionado sobre a cola uma gota de acelerador específico (Zip Kicker, Washington, EUA), foi utilizada uma pinça para inserção do produto. Posteriormente, os dispositivos contendo os palitos colados foram montados em máquina de microtração Odeme Microtensile OM 100 (Odeme Dental Research, Luzerna, SC, Brasil)²⁸, que atuou com velocidade de 0.7mm/min para avaliação da resistência de união (Mpa) (Figura 6B). Os valores de resistência de união foram obtidos em Mpa por meio da fórmula:

$Ru = (F/A)$. Onde RU = resistência de União, F = carga necessária para fraturar o espécime (N), A = área da interface de união em mm.



Figura 6. (A) Palito posicionado em *stubs* metálicos para serem submetidos à microtração; (B) máquina de microtração Odeme Microtensile OM 100 (Odeme Dental Research, Luzerna, SC, Brasil).

2.4.2 Avaliação do padrão de fratura

Após a ruptura, os palitos foram analisados em lupa estereoscópica (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) com aumento de 40X, para identificar seu modo de fratura, classificados em: A - fratura coesiva na dentina; B – fratura na interface adesiva; C -

fratura coesiva na resina; D - fratura mista, ou seja, fratura na interface adesiva com envolvimento coesivo de dentina e/ou resina.

Palitos representativos dos padrões de fratura foram selecionados para observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os espécimes selecionados para análise em MEV foram posicionados em *stubs*, mantendo as áreas envolvidas nas fraturas voltadas para cima. Em seguida, foram metalizados com ouro (Balzers SCD-050 sputter coater, OC Oerlikon Corporation AG, Pfäffikon, Suíça) e levados à microscopia eletrônica de varredura (EVO LS-15, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) sob aumento de 1000x para a realização das imagens representativas.

2.4.3 Avaliação da dureza e módulo de elasticidade da camada híbrida

Os palitos destinados para estas análises foram individualmente embutidos em resina acrílica incolor e após a polimerização, foram submetidos ao polimento utilizando lixas de óxido de alumínio (Extex Corp., Enfield, CT, EUA) de granulação 320, 600, 800 e 1200, além das soluções diamantadas de 6, 3, 1 e 0.5 μ m (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) utilizadas em feltro. Após o preparo das amostras, as mesmas foram armazenadas por 3 dias até a realização do teste.

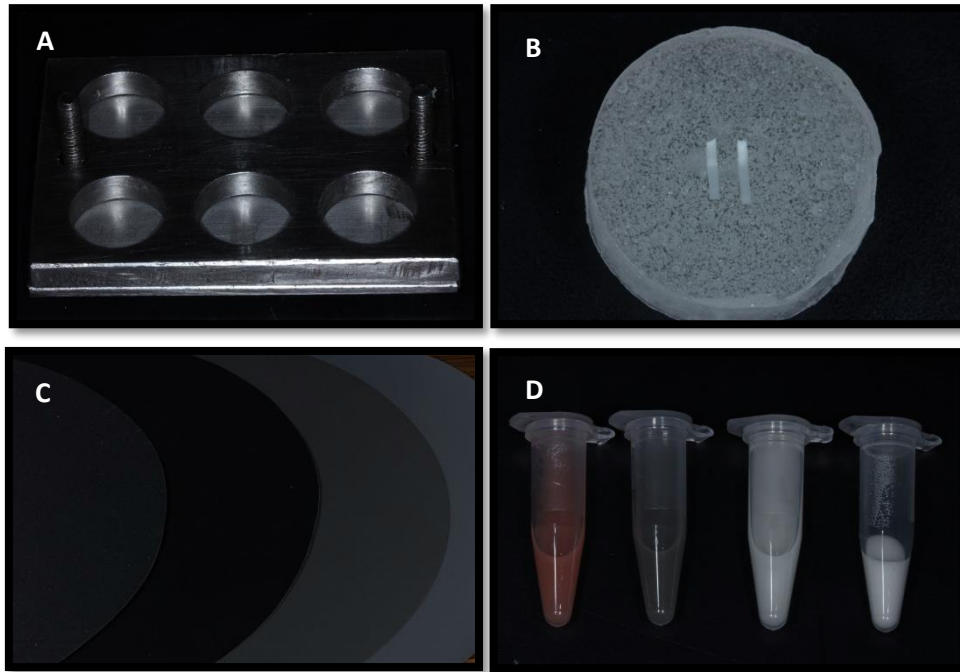


Figura 7. (A) Matriz metálica utilizada para embutir as amostras em resina; (B) Bloco de resina contendo palitos incluídos; (C) Lixas para polimento, com granulações 320, 600, 800 e 1200, respectivamente; (D) Soluções diamantadas de 6, 3, 1 e 0.5 μ m em feltro (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA).

A superfície preparada foi levada ao nanodurômetro Triboindenter (Hysitron Inc, Minneapolis, MN) para verificação da nanodureza (H) e módulo de elasticidade (Er), sob ação de carga de 1000 μ N, aplicada durante 5 segundos, seguida pela manutenção de carga máxima por 2 segundos adicionais e remoção da carga durante 5 segundos (5-2-5). Tal protocolo permite que a deformação do material não interfira no cálculo do módulo de elasticidade.²⁹ A ponta indentadora utilizada foi a piramidal Berkovich, sendo realizadas cinco indentações em cada amostra. Os valores de dureza (H) e módulo de elasticidade (Er) foram calculados baseados na curva tensão-deformação de acordo com a seguinte equação matemática ³⁰:

$$E_r = S \sqrt{\pi} / 2 \sqrt{A}$$

Onde **S** é a rigidez do segmento inicial de remoção da carga e **A** é a área de contato projetada entre a ponta indentadora e a amostra no pico máximo de força.

$$H = P_{\max} / A$$

Onde **P_{max}** é a carga máxima e **A** é a área de contato projetada como descrita no cálculo do módulo de elasticidade.

2.4.5 Ciclagem térmica

Os palitos destinados aos testes tardios foram submetidos ao envelhecimento, utilizando 10.000 ciclos térmicos,³¹ com banhos de água a temperaturas de 5° e 55°C, com tempo de permanência de 30 segundos, em máquina de ciclagem térmica Modelo 521-4D (Nova Ética Ind., Com e Serv Ltda, Vargem Grande Paulista – SP, Brasil). Na sequência foram avaliados quanto à resistência de união (3 palitos) e nanodureza da camada híbrida (1 palito).

2.5 Resistência Coesiva do colágeno

Após a realização dos tratamentos clareadores e controle, os trinta dentes (n=10) foram seccionados no sentido inciso-cervical, obtendo-se aproximadamente 4 fatias de aproximadamente 1mm. Para tanto, foi utilizado um disco diamantado em baixa velocidade (Isomet, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração de água. Posteriormente, as fatias foram submetidas a um cuidadoso desgaste da região central com uma ponta diamantada #1014 (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil), obtendo forma de ampulheta com dimensões de 1x1 mm.³² Posteriormente, todas as amostras tiveram a região central desmineralizadas em ácido fosfórico 37% durante 24 horas, sendo posteriormente lavados com água deionizada por 10 minutos.^{32; 33} Duas fatias provenientes de cada dente foram destinados à avaliação imediata, por meio do teste de microtração.

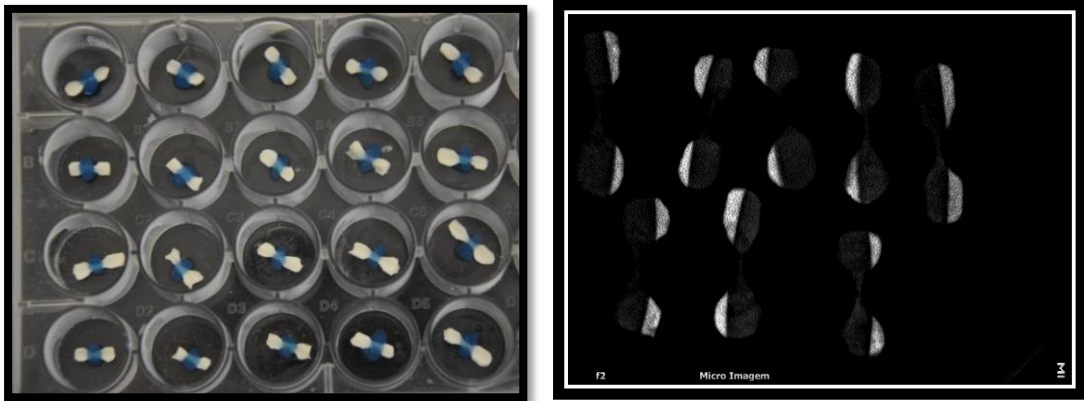


Figura 8. (A) Amostras em forma de ampulhetas sendo desmineralizadas na região central com ácido fosfórico 37%. (B) Rx dos espécimes após desmineralização.

2.5.1 Microtração do colágeno

As fatias foram fixadas a um dispositivo metálico, semelhante ao descrito no teste de microtração, utilizando cola a base de cianoacrilato (Zapit, Dental Ventures of America, Corona, CA), sendo posteriormente posicionados em máquina de microtração, Odeme Microtensile OM 100 (Odeme Dental Research, Luzerna, SC, Brasil) a velocidade de 0.7mm por minuto para avaliação da resistência coesiva do colágeno (MPa), por meio da fórmula:

$$Ru = (F/A)$$

Onde RC = resistência do colágeno, F = carga necessária para ruptura do espécime (N), A = área da seção em mm².

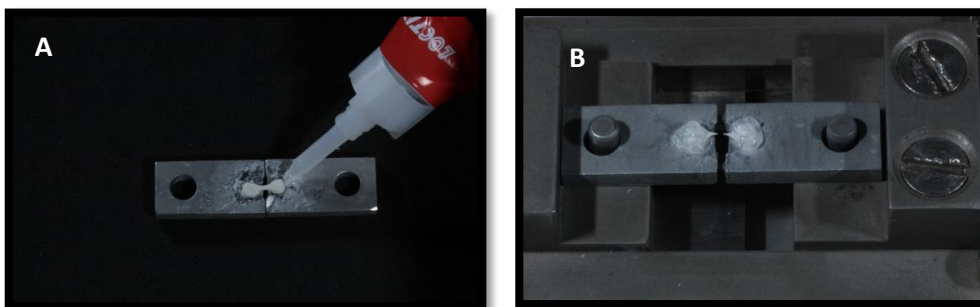


Figura 9 – (A) Fatia posicionada em *stubs* metálicos utilizando cola à base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of America, Corona, CA) (B) Fatia de dentina tracionada em máquina de ensaio universal Odeme Microtensile OM 100 (Odeme Dental Research, Luzerna, SC, Brasil).

2.5.2 Degradação enzimática (Colagenase)

As duas fatias restantes, já desmineralizadas, foram individualmente degradadas com 2 ml de colagenase bacteriana derivada de *Clostridium histolyticum* (7,5 U / 1 mL) em meio de incubação (50 mmol / L de HEPES, 1,5 mmol / L CaCl₂ · 2H₂O, 150 mmol / L de NaCl, e 3 mmol / l de NaN₃, pH 7,2) com agitação 120 rpm a 37°C durante 24 horas.^{33; 34} Após o preparo, as amostras foram analisadas por meio do teste de microtração e submetidas à avaliação do padrão de fratura, como descrito anteriormente, porém, com aumento de 2000x.

3. Análise estatística

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do software SigmaPlot 12.0. Os dados foram analisados quanto à normalidade utilizando o teste Shapiro-Wilk. Os dados de cor superficial, resistência de união, propriedades mecânicas e resistência à tração do colágeno foram submetidos ao teste ANOVA dois fatores medidas repetidas e pós teste de Tukey para múltipla comparação entre as médias ($\alpha=0,05$).

4. Resultados

Resultados

- Alteração Cromática

A tabela 1 apresenta os valores de alteração cromática nos diferentes tempos de análise. Observa-se que o grupo controle não apresentou alteração ao longo do tratamento ($p > 0,05$), enquanto que os tratamentos com LED e gel clareador proporcionaram alterações cromáticas contínuas e crescentes até o fim do experimento. Ao comparar os diferentes tratamentos, pode-se observar que em todos os tempos o grupo Gel apresentou os maiores valores de ΔE , o LED apresentou valores intermediários, ambos diferindo estatisticamente do Controle ($p < 0,05$).

Tabela 1. Média e desvio padrão da variação de cor (ΔE), em diferentes tempos analisados.

	ΔE		
	T1	T2	T3
CONTROLE	1,53(1,54) Ca	2,47(1,42) Ca	2,0(2,29) Ca
LED	3,25(1,31) Bb	4,15(1,78) Bab	4,82(1,58) Ba
GEL	6,50(1,42) Ac	9,17(1,86) Ab	10,67(3,26) Aa

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

Em relação ao valores de ΔL , a tabela 2 mostra que o grupo controle permaneceu inalterado durante todo o experimento. Os grupos LED e GEL aumentaram a luminosidade gradualmente, mas somente em T3 diferiram de T1. A comparação entre os grupos mostrou que em T1 todos os tratamentos proporcionaram resultados semelhantes ($p > 0,05$). Em T2, os grupos que receberam algum tipo de tratamento clareador (LED e GEL) apresentaram tendência de aumentar a luminosidade, no entanto somente o tratamento com Gel diferiu estatisticamente do grupo controle ($p < 0,05$). Já

em T3, todos os grupos apresentaram diferença estatística, com GEL apresentando maior alteração, seguido de LED e controle ($p < 0,05$).

Tabela 2. Média e desvio padrão dos valores de ΔL , em diferentes tempos analisados.

ΔL			
	T1	T2	T3
CONTROLE	-0,12(0,94) Aa	-0,26(2,46) Ba	0,13(1,03) Ca
LED	1,26(1,80) Ab	1,49(2,16) ABab	2,65(1,89) Ba
GEL	1,94(2,59) Ab	2,68(3,45) Ab	5,51(3,56) Aa

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

Com relação aos valores de Δa^* , na tabela 3 pode-se observar que somente o grupo GEL oscilou ao longo do tempo, apresentando em T3 o maior valor, sendo estatisticamente diferente de T2 e T1 ($p < 0,05$). A comparação entre os grupos mostrou que em T1 e em T2 o grupo LED gerou maiores valores de Δa . Em T3, os grupos LED e GEL apresentaram maiores valores, diferindo do controle $p < 0,05$).

Tabela 3. Média e desvio padrão dos valores de Δa^* , ao longo do experimento.

ΔA^*			
	T1	T2	T3
CONTROLE	-0,16(0,25) Ba	-0,1(0,47) Ba	0,26(0,81) Ba
LED	1,67(1,13) Aa	2,22(1,11) Aa	1,94(1,36) Aa
GEL	-0,73(0,81) Bc	-0,14(1,06) Bb	2,08(1,86) Aa

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

Com relação à análise dos valores de delta b^* , observou-se que o grupo controle apresentou menores valores em T1, diferindo estatisticamente em T2. Os grupos LED e GEL apresentaram tendência de diminuição dos valores de acordo com o tempo

analisado, porém, somente o grupo GEL diferiu estatisticamente entre T1 e T2($p < 0,05$) (Tabela 4). Avaliando os tratamentos propostos, observa-se que em todos os tempos, apenas o grupo GEL apresentou diferença estatística com relação aos demais ($p < 0,05$).

Tabela 4. Média e desvio padrão dos valores de ΔB^* , em diferentes tempos analisados.

	ΔB^*		
	T1	T2	T3
CONTROLE	-0,6(1,35) Ab	1,34(2,14) Aa	0,27(1,10) Aab
LED	1,16(1,52) Aa	1,54(2,34) Aa	0,32(3,19) Aa
GEL	-5,24(2,39) Ba	-7,75(2,89) Bb	-7,68(3,01) Bb

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

- Resistência de união

A tabela 5 mostra os valores de resistência de união em superfície dentinária, antes e após termociclagem. Comparando os diferentes grupos constata-se que todos foram estatisticamente semelhantes, antes e após a termociclagem ($p > 0,05$). Também foi observado que todos os grupos sofreram influência da termociclagem, apresentando menores valores após o desafio ($p < 0,05$).

Tabela 5. Valores de média e desvio padrão da resistência de união, através do teste de microtração, antes e após termociclagem.

	CONTROLE		LED		GEL	
ANTES TERMOCICLAGEM	28,45 (4,26)	Aa	28,47 (7,15)	Aa	25,05 (4,76)	Aa
APÓS TERMOCICLAGEM	18,01 (7,25)	Ba	17,95 (8,24)	Ba	16,27 (7,31)	Ba

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

Padrão de fratura

O Gráfico 1 mostra a distribuição das falhas nos testes realizados em dentina, antes e após termociclagem. Observa-se que o padrão de fratura mais frequente nos grupos controle e LED foi adesiva (38,33% e 50%, respectivamente) (Figura 10). No grupo GEL o padrão de fratura mais frequente foi mista (33%), antes da termociclagem.

Após desafio térmico, observa-se que em todos os grupos o padrão de fratura mais frequente foi adesiva (Figura 11).

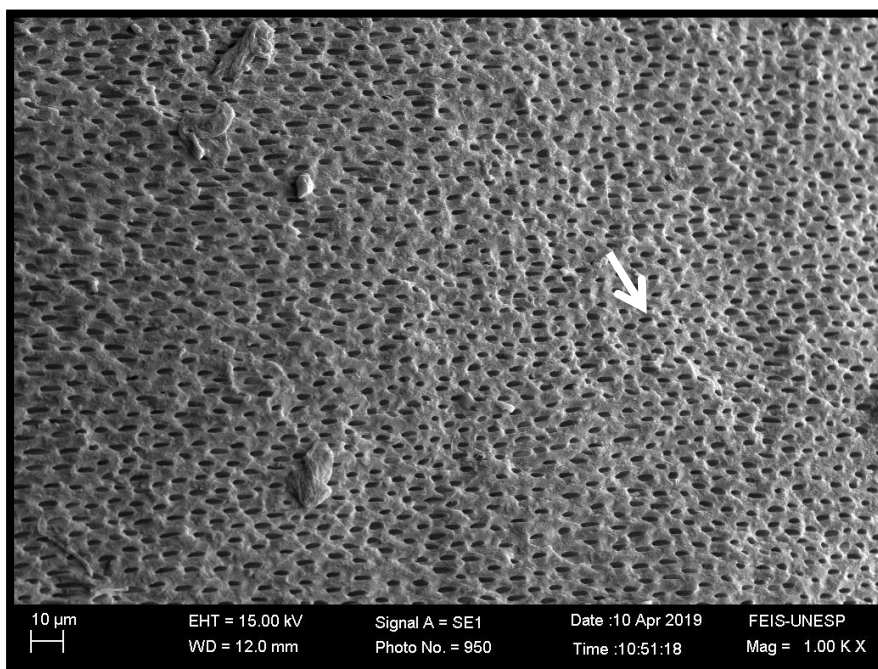
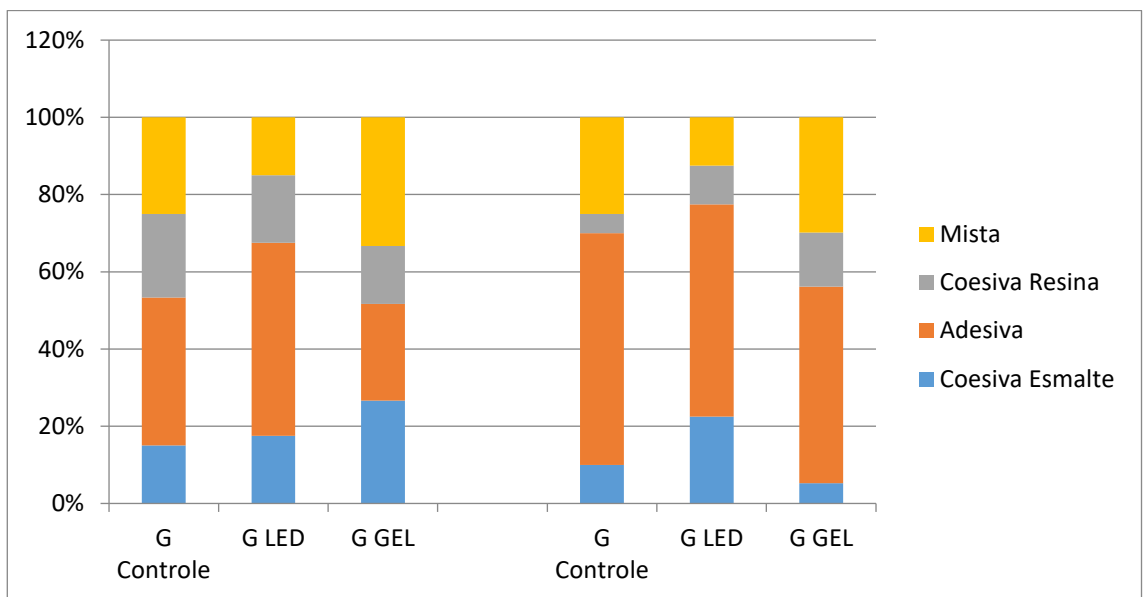


Figura 10. Microscopia eletrônica de varredura do espécime do grupo GIII do teste realizado em dentina, antes da ciclagem térmica. Observa-se que houve fratura coesiva em dentina, podendo observar os túbulos dentinários (seta). Aumento de 1000x.

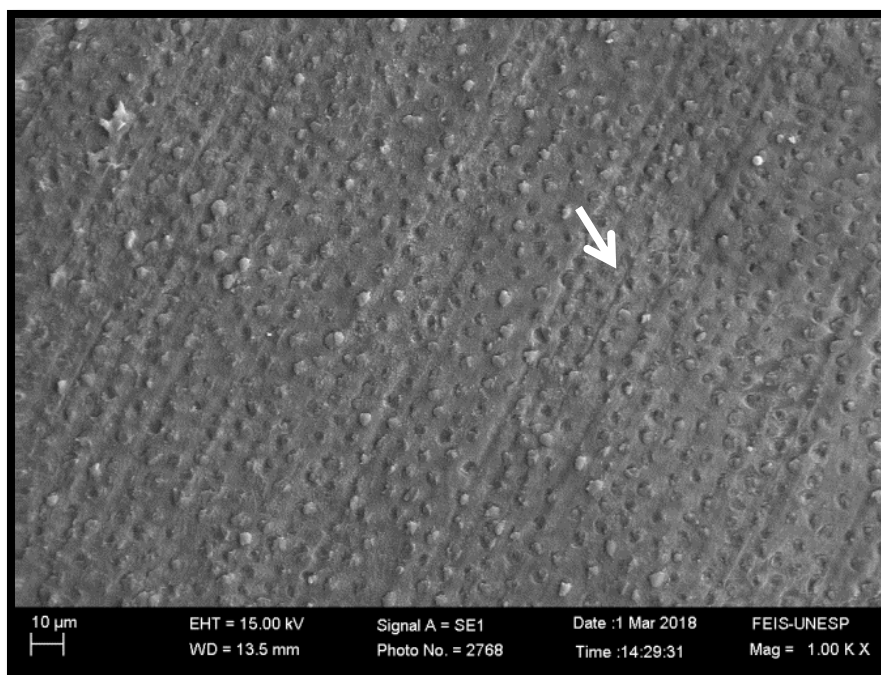


Figura 11. Microscopia eletrônica de varredura do espécime do grupo GI do teste realizado em dentina, após ciclagem térmica. Observa-se que houve fratura adesiva, podendo ser observada a presença de túbulos dentinários preenchidos por tags resinosos (seta). Aumento de 1000x.

- Nanodureza e Módulo de Elasticidade

Com relação aos valores de nanodureza da camada híbrida (Tabela 6) e módulo de elasticidade (Tabela 7), pode-se observar nenhum tratamento resultou em diferença estatística entre os grupos e entre os tempos, antes e após a termociclagem ($p > 0,05$).

Tabela 6. Valores de média e desvio padrão da nanodureza, antes e após termociclagem.

	CONTROLE		LED		GEL	
ANTES TERMOCICLAGEM	0,28 ± 0,11	Aa	0,24 ± 0,07	Aa	0,21 ± 0,21	Aa
APÓS TERMOCICLAGEM	0,30 ± 0,10	Aa	0,28 ± 0,12	Aa	0,26 ± 0,26	Aa

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

Tabela 7. Valores de média e desvio padrão do módulo de elasticidade, antes e após termociclagem.

	CONTROLE		LED		GEL	
ANTES TERMOCICLAGEM	7,06 ± 1,20	Aa	7,51 ± 1,09	Aa	6,78 ± 0,81	Aa
APÓS TERMOCICLAGEM	9,05 ± 1,25	Aa	7,59 ± 2,60	Aa	7,67 ± 1,53	Aa

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

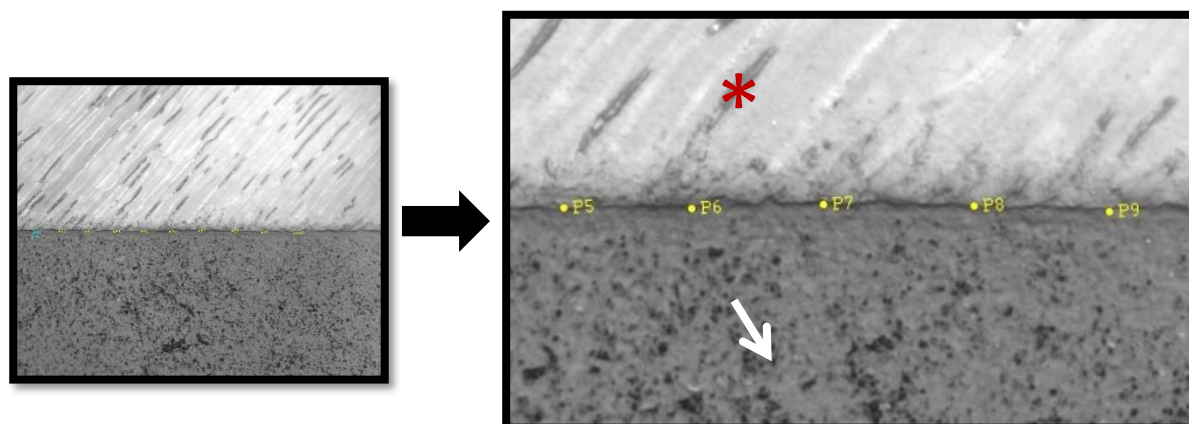


Figura 12. Imagem representativa da interface adesiva de um espécime do grupo GI, destinado ao teste de nanodureza. Regiões numeradas representam o local de realização da nanoindentação (camada híbrida), asterisco representa dentina, podendo observar os túbulos dentinários, enquanto que a seta está indicando o material restaurador. Aumento de 1000x.

- Resistência coesiva do colágeno

Analisando a tabela 8 pode-se observar que, antes do desafio proposto, o grupo GEL apresentou os menores valores de resistência, diferindo do controle. Já o grupo LED apresentou resultados intermediários, sendo semelhante aos dois tratamentos (GEL e controle) ($p < 0,05$). Após a degradação enzimática, pode-se observar que os grupos apresentaram o mesmo comportamento, caracterizado pela redução significativa nos valores de resistência no grupo GEL. Na comparação antes e após a degradação, pode-se observar que houve uma diminuição nos valores de resistência coesiva do colágeno para todos os grupos ($p < 0,05$).

Tabela 8. Valores de média e desvio padrão da resistência do colágeno dentinário, antes e após degradação enzimática, utilizando colagenase bacteriana.

	CONTROLE		LED		GEL	
ANTES DEGRADAÇÃO	71,78 ± 0,29	Aa	66,44 ± 2,13	Aab	57,67 ± 1,99	Ab
APÓS DEGRADAÇÃO	20,41 ± 7,15	Ba	11,94 ± 2,40	Bab	7,59 ± 1,74	Bb

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

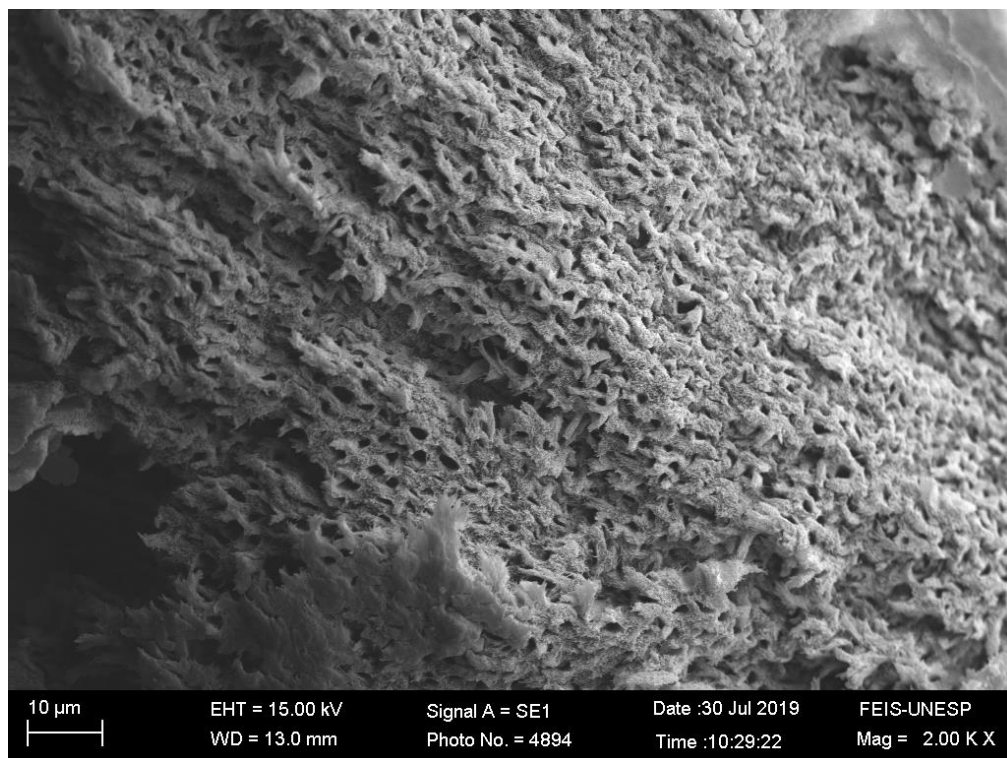


Figura 13. Microscopia eletrônica de varredura do espécime de dentina desmineralizado e clareado, antes da degradação enzimática com collagenase bacteriana, sendo possível observar a malha de colágeno exposta. Aumento de 2000x.

5. Discussão

Discussão

Recentemente foi proposta uma nova forma de tratamento clareador, baseada no emprego do LED violeta, que teoricamente dispensaria o uso de géis à base de peróxidos.^{25; 26} Esta nova possibilidade de tratamento, se efetiva, representaria um avanço importante na Odontologia, uma vez que mudaria os protocolos baseados no

emprego de géis contendo altas concentrações de peróxido e seus respectivos efeitos colaterais.^{11; 12}

Para a análise da eficácia clareadora promovida por esta nova tecnologia, bem como pela técnica clareadora tradicional, empregou-se um espectofotômetro com parâmetros CIE Lab, que tem sido considerado um método preciso e eficaz para a determinação de cor de unidades dentárias.³⁶ No presente estudo foram obtidos resultados distintos entre as técnicas, que representaram diferentes níveis de alteração cromática, negando a primeira hipótese nula deste trabalho.

Analisando o ΔE , que representa a variação de cor ao longo do tempo, observa-se que apesar do gel proporcionar maior alteração cromática, o LED também apresentou efetividade, já que ambos ultrapassaram a variação de 3,3, valor considerado visualmente detectável.²⁷ Os resultados das análises de alteração cromática corroboram com os observados nos casos clínicos apresentados até o presente momento utilizando peróxidos de baixas concentrações ou até mesmo o uso isolado da luz.^{26; 37; 38}

Ao analisar as coordenadas separadamente, destaque deve ser dado ao aumento significativo nos valores de L e diminuição nos valores de b^* que foram observados para o grupo tratado com gel. Vale ressaltar que o aumento de L indica um aumento no brilho da amostra, enquanto que a redução de b^* indica que houve uma diminuição em tons amarelados, com predominância azulada. Estes resultados comprovam que houve um efeito clareador, para tanto, os parâmetros (ΔL e Δb^*) devem ser essencialmente considerados.³⁹ Sabe-se que a alteração cromática proveniente de géis à base de peróxidos é resultado da permeação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) no tecido dentário, seguido de suas reações com moléculas cromóforas, promovendo clivagem e alterando suas propriedades ópticas. Analisando a variação de cor ao longo do tempo, pode-se observar que houve saturação do substrato promovida pelo gel após segunda

sessão, o que de certa forma difere dos dados anteriormente publicados, em que a saturação cromática ocorreu após três sessões de clareamento.^{9; 27}

No estudo de Gallinari e colaboradores²⁷, o uso do LED apresentou maior efeito clareador, esse efeito pode estar associado à pigmentação prévia das amostras com chá preto, indicando maior alteração cromática devido à quebra das moléculas pigmentantes provenientes do chá, bem como a necessidade de maior número de sessões clareadoras para ocorrer a saturação da amostra, independente da técnica utilizada.

O grupo LED apresentou a mesma tendência de clareamento discutida anteriormente, embora tenha mostrado menor intensidade se comparado ao grupo gel. Analisando a coordenada L, observa-se que houve um aumento no brilho de superfície, e apesar de não apresentar diferença estatística, houve diminuição dos valores da coordenada b* ao longo do tempo. Provavelmente essas alterações ocorreram devido à quebra de moléculas de pigmento, que são fotorreceptoras e, portanto, altamente reativas à luz.²⁵ Os comprimentos de onda do LED violeta (405-410 nm) coincidem com o pico de absorção das moléculas de pigmento presentes na estrutura dentária, o que pode resultar na quebra ou instabilidade molecular dos agentes cromógenos, proporcionando um efeito clareador mediante um processo físico de fotólise.²⁶ Por outro lado, as características da luz também limita a sua ação nas camadas superficiais, deixando de atuar nas camadas mais profundas do tecido dentinário, onde quantidade substancial dos pigmentos se concentram. Estas características de uma fonte luminosa com este comprimento de onda explicam a enorme diferença que existe na eficácia das técnicas.

Com relação ao teste de adesão, após a conclusão dos tratamentos clareadores é comum a necessidade de substituir restaurações estéticas pré-existentes, uma vez que a alteração cromática produzida pela terapia clareadora ocorre de forma mais pronunciada

no tecido dentário, deixando as restaurações destacadas na cavidade bucal.^{20; 42} No entanto, a literatura mostra que o tratamento clareador à base de peróxidos proporciona alterações no substrato, bem como saturam o tecido dental de oxigênio, o que compromete a adesão de restaurações realizadas imediatamente após a conclusão do tratamento clareador.^{22; 23; 24; 35; 40}

Na análise inicial observou-se que todos os grupos foram estatisticamente semelhantes, demonstrando que nenhum dos tratamentos clareadores influenciou nos valores de resistência adesiva imediatamente após a realização das restaurações. Alguns autores relatam que o dano causado pelo agente clareador na resistência de união é mais severo em esmalte do que em dentina, uma vez que a dentina bovina apresenta túbulos maiores, facilitando a interação com o sistema adesivo.^{41; 42;43} Ainda neste contexto, Nakamichi et al.⁴⁴ afirmaram que a adesão obtida na dentina profunda seria mais influenciada pelo tratamento clareador do que na proximidade da junção amelodentinária. Assim, os resultados encontrados poderiam ser explicados pela remoção do tecido (esmalte) que manteve contato direto com o produto clareador, limitando-se à dentina superficial.

Tamura e colaboradores⁴⁵ constataram que o tratamento clareador pode alterar o conteúdo orgânico e as propriedades mecânicas da dentina, sendo o seu efeito na adesão, mesmo que existente, secundário. Isso ocorre devido ação de enzimas proteolíticas, como a pepsina, que promovem dissolução da matriz orgânica através de processos bioquímicos, acentuando a degradação dentinária. Estes dados, de certa forma, corroboram com os nossos achados, uma vez que houve redução na resistência coesiva da dentina nos grupos submetidos aos protocolos clareadores, como ilustrado na Figura 10.

Os resultados obtidos após a termociclagem mostraram uma redução significativa nos valores de resistência adesiva em todos os grupos analisados, negando a segunda hipótese nula deste trabalho. Estudos realizados em dentina mostram que além da diferença de expansão térmica e hidrólise na camada híbrida, pode ocorrer a degradação do colágeno desnudo pela enzima metaloproteinase MMP, o que explica essa redução dos valores após o desafio térmico. Sangwichit et al³¹, avaliaram a resistência de união em dentina e a micromorfologia da interface após termociclagem, e constataram a presença de nanoinfiltração e degradação da camada híbrida, resultando em enfraquecimento desta interface. Este fenômeno explica a maior ocorrência de falhas adesivas em todos os grupos o desafio térmico, como pode ser observado na Figura 11.

Com relação às variáveis de resposta, nanodureza e módulo de elasticidade, não houve alterações após os tratamentos propostos, sendo aceita a terceira hipótese nula. A nanodureza tem sido aplicada para avaliar a degradação superficial de materiais e o grau de mineralização dos tecidos. Sendo assim, o teste de nanoindentação foi introduzido como um método confiável para estudar as mudanças nas propriedades mecânicas das superfícies analisadas.⁴⁶

Abe e colaboradores ⁴⁶ avaliaram a nanodureza de diferentes substratos, após o tratamento clareador comparando quatro diferentes géis, e constataram que não houve diminuição nos valores de nanodureza das superfícies tratadas com três composições desses géis, inclusive com o produto a base de peróxido de hidrogênio a 35%, utilizado também no presente estudo. Ressalta-se, porém, que as amostras submetidas ao agente clareador Pola Office, que apresenta pH consideravelmente mais ácido, apresentou redução considerável nos valores da nanodureza da camada híbrida. Este fato indica que esta propriedade pode estar diretamente ligada ao pH do produto utilizado no procedimento clareador.

Apesar de não haver diferença estatística após termociclagem foi observado uma tendência de aumento da nanodureza em todos os grupos. Isso pode ser explicado pela permanência de fibrilas de colágeno expostas na interface adesiva, que podem ser reforçadas por cristais de apatita de uma fase amorfa por meio de uma reação Ca/P que ocorrem em baixas temperaturas.⁴⁷

Neste contexto, Toledano e colaboradores⁴⁸ também observaram novos segmentos minerais na camada híbrida após termociclagem, com diminuição das porosidades, conferindo maior integridade da região, devido a reação Ca/P, que ocorre concomitantemente ao estresse térmico até gerar esse ajuste mineral.

Analisando os valores de resistência coesiva do colágeno, foram observadas alterações na estrutura dentinária no grupo tratado com Gel, bem como redução nos valores de resistência coesiva em todos os grupos após degradação enzimática, negando a quarta hipótese nula do presente estudo.

Quando analisado o desempenho do grupo tratado com peróxido, constatou-se redução significativa dos valores de resistência coesiva do colágeno, corroborando com vários estudos prévios.^{48; 49} Este fato relaciona-se com a degradação do colágeno mediada pelas MMP na dentina, que se intensifica quando os espécimes são desmineralizados com ácido fosfórico,⁵⁰ expondo fibrilas de colágeno, como pode ser observado na Figura 13. Isso pode ocorrer pela desnaturação de proteínas dos agentes oxidantes presentes nos géis clareadores, bem como alteração da estrutura química da dentina por meio de um desequilíbrio nos níveis de Ca/P, já que as reações dos radicais livres não são específicas e podem reagir com estruturas orgânicas.⁴⁹

Apesar do LED não diferir do controle, nota-se uma tendência de redução dos valores de resistência no grupo que foi irradiado com LED Violeta, podendo promover

maior comprometimento das estruturas orgânicas se empregar posologias mais intensas. Uma possível alteração na superfície pode ter sido consequência da irradiação direta do LED violeta no substrato, com consequente aumento da temperatura na superfície dental. Por ser uma tecnologia recente faltam dados na literatura sobre sua influência em conteúdos orgânicos e inorgânicos, porém, dados ainda não publicados provenientes deste grupo de pesquisa confirmam que o LED violeta promove um considerável aquecimento na superfície dentária. Vale destacar que a irradiação ocorreu sobre esmalte, e a superfície avaliada foi a dentina após desgaste do esmalte dentário, sendo assim, o tecido com maiores alterações pode ter sido removido após o desgaste realizado.

Nota-se que a degradação enzimática interferiu significativamente na integridade e estabilidade do colágeno, esse efeito pode estar associado à liberação de enzimas relevantes na degradação do colágeno, como a MMP-2 que tem maior atividade contra colágenos fibrilares, e MMP-8 derivada de odontoblastos, que é a enzima com maior atividade colagenolítica em dentina.⁵¹ Como consequência, ocorre a liberação do aminoácido hidroxiprolina, já que as moléculas de colágeno são formadas por uma sequência de aminoácidos compostos geralmente por prolina e hidroxiprolina.³³ Priyadarshini BM e colaboradores⁵¹ avaliaram que a liberação de hidroxiprolina pode ser usada para representar a concentração de colágeno tecidual, de modo que uma menor liberação de hidroxiprolina indica maior conteúdo de colágeno, bem como a resistência do substrato, visto que esse composto está diretamente relacionado a estrutura do colágeno.

Vale destacar que por se tratar de uma nova tecnologia e de um tema ainda não explorado na literatura, este estudo foi realizado em triplicata, com diferentes lotes de dentes, objetivando apresentar resultados confiáveis.

Embora o presente estudo apresente limitações por se tratar de um estudo *in vitro*, os resultados obtidos contribuem no entendimento de como a luz LED violeta influencia na alteração cromática. No entanto, mais estudos são necessários para comprovar tais resultados, uma vez que se trata de uma nova tecnologia.

Conclusão

Conclusão

Portanto, podemos concluir que:

- a) O emprego do Led violeta isoladamente promoveu significativa alteração cromática, porém a utilização de peróxido de hidrogênio 35% apresentou efeitos mais intensos;
- b) Tratamento clareador utilizando LED violeta e peróxido de hidrogênio 35% não influenciaram na adesão de materiais restauradores em dentina;
- c) As propriedades mecânicas da camada híbrida não foram alteradas após tratamento clareador utilizando LED violeta e peróxido de hidrogênio 35%;
- d) Na avaliação da resistência coesiva do colágeno, foi observado alterações na estrutura dentinária no grupo tratado com Gel, bem como a influência da degradação enzimática em todos os grupos estudados.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

1. Matis BA, Cochran MA, Eckert G. (2009) Review of the effectiveness of various tooth whitening systems **Oper Dent** 34:230-5.
2. Moreira JC, Gallinari MO, Rahal V, Fagundes TC, Santos PH, Moura MR, Briso AL (2016) Effect of Dental Pigmentation Intensity on the Transenamel and Transdentinal Penetration of Hydrogen Peroxide **Braz Dent J** v.27, n.4, p.399-403.

3. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran, JF (1993) Cytotoxicity and Dentin Permeability of Carbamide Peroxide and Hydrogen Peroxide Vital Bleaching Materials, in vitro **J Dent Res**, v.72, n.5, p.931-938.
4. MENA-SERRANO, AP Parreiras, SO Do Nascimento EM; Borges CP; Berger, SB, Loguercio AD, Reis A (2015) Effects of the Concentration and Composition of In-office Bleaching Gels on Hydrogen Peroxide Penetration into the Pulp Chamber **Oper Dent**, v.40, n.2, p.76-82.
5. Goldberg M, Grootvelt M, Lynch E (2010) Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: A review **Clin Oral Investig**, v.14, n.1, p.1-10.
6. Perdigão J (2010) Dental whitening – revisiting the myths **Northwest Dent**, v.89, n.6, p.19-21.
7. Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Amin WM, Martinez PP, Celemin A, Cerruti M, Tamimi F (2012) Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure **J Dent**, v.40, n.2, p.25-33.
8. Gonçalves RS, Costa CAS, Soares DGS, Santos PH, Cintra LTA, Briso ALF (2016) Effect of Different Light Sources and Enamel Preconditioning on Color Change, H₂O₂ Penetration, and Cytotoxicity in Bleached Teeth. **Oper Dent**, v.41, n.1, p.83-92, 2016.
9. De Almeida LCAG, Soares DG, Azevedo FA, Gallinari MO, Costa CAS, Santos PH, Briso ALF (2015) At home bleaching: Color alteration, hydrogen peroxide diffusion and cytotoxicity **Braz Dent J** v.26, n.4, p.378-383.
10. Marson FC, Gonçalves RS, Silva CO, Cintra LT, Pascotto RC, Santos PH, Briso AL (2015) Penetration of Hydrogen Peroxide and Degradation Rate of Different Bleaching Products **Oper Dent**, v.40, n.1, p.72-79.
11. Cintra, LTA; Benetti, F; Ferreira, LT; Gomes-Filho, JE; Ervolino, E; Gallinari, Mo; Rahal, V; Briso, ALF (2016) **Braz Dent J**, v.27, n.2, p.169-175.
12. Vaz MN, Lopes LG, Cardoso PC, Souza JB, Batista AC, Costa NL, Torres, EM, Estrela C (2016) Inflammatory response of human dental pulp to at-home and in-office tooth bleaching. **J Appl Oral Sci** 24(5): 509-517
13. Kina JF, Huck C, Riehl H, Martinez TC, Sacono NT, Ribeiro AP, Costa CAS (2010) Response of human pulps after professionally applied vital tooth bleaching. **Int Endod J**, v.43, n.7, p.572-580.
14. Seale NS, Wilson CF (1985) Pulpal response to bleaching of teeth in dogs. **Pediatr Dent**, v.7, n.3, p.209-214.

15. Costa CAS, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J (2010) Human pulp responses to in-office tooth bleaching. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.109, n.4, p.59-64.
16. Kwon SR, Oyoyo U, Li Y (2013) Effect of light activation on tooth whitening efficacy and hydrogen peroxide penetration: An in vitro study. **J Dent**, v.41, n.3, p.39-45.
17. Buchalla, W, Attin T (2007) External bleaching therapy with activation by heat, light or laser – A systematic review **Dent Mater**, v.23, n.5, p.586-96.
18. Lima AF, Basso FG, Ribeiro AP, Bagnato VS, Hebling J, Marchi GM, Costa CAS (2014) Effects of Laser Irradiation on Pulp Cells Exposed to Bleaching Agents. **Photochem Photobiol**, v.90, n.1, p.201-206.
19. Vasconcelos MF, Fonseca-Gonçalves A, DE França AK, DE Medeiros UV, Maia LC, Queiroz CS (2016) An InVitro Evaluation of Human Enamel Surfaces Subjected to Erosive Challenge After Bleaching. **J Esthet Restor Dent** 28(6). doi: 10.1111/jerd.12277.
20. Cavalli V, Silva BG, Berger SB, Abuna G, Marson FC, Tabchoury CPM, Giannini M (2016) Effect of Adhesive Restoration and Bleaching Technique on the Concentration of Hydrogen Peroxide In the Pulp Chamber **Oper Dent**. (in press) doi: dx.doi.org/10.2341/16-079-L. Acesso online: 28 nov 2016
21. Alencar MS, Bombonatti JFS, Maenoso RM, Soares AF, Wang L, Francisco R, Mondelli L (2016) Effect of Two Antioxidants Agents on Microtensile Bond Strength to Bleached Enamel. **Braz Dent J**, v.27, n.5, p.532-536.
22. Briso AL, Rahal V, Sundfeld RH, DOS Santos PH , Alexandre RS (2014) Effect of sodium ascorbate on dentin bonding after two bleaching techniques. **Oper Dent**. Mar-Apr;39(2):195-203. doi: 10.2341/12-054-L. Epub 2013 Jul 12.
23. Briso AL, Toseto RM, Rahal V, dos Santos PH, Ambrosano GM. Effect of sodium ascorbate on tag formation in bleached enamel. *J Adhes Dent*.2012; 14(1):19-23.
24. Sundfeld RH, Briso AL, DE Sá PM, Sundfeld ML, Bedran-Russo AK (2005) Effect of time interval between bleaching and bonding on tag formation. *Bull Tokyo Dent Coll* 46 (1-2): 1-6.
25. Zanin F (2016) Recent Advances in Dental Bleaching with Laser and LEDs **Photomed Laser Surg** 34(4): 135-136

26. Lago AD, Ferreira WD, Furtado GS (2017) Dental Bleaching With The Use Of Violet Light Only: Reality Or Future? **Photodiagnosis Photodyn Ther.** ; v.17: 124-126. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.11.014. Acesso online: 27 nov 2016.
27. Gallinari MO, Fagundes TC, da Silva LM, de Almeida MB, Barboza A, BRISO (2019). A New Approach for Dental Bleaching Using Violet Light With or Without the Use of Whitening Gel: Study of Bleaching Effectiveness **Oper Dent.** Apr 25. doi: 10.2341/17-257-L. [Epub ahead of print]
28. Armstrong S, Breschi L, Ozcan M, Pfefferkorn F, Ferrari M, Van Meerbeek B (2017) Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (μ TBS) approach **Dent Mater** 33(2):133-143.
29. dos Santos PH, Karol S, Bedran-Russo, AK (2011) Nanomechanical properties of biochemically modified dentin bonded interfaces **J Oral Rehabil**, v.38, n.7, p.541-6.
30. Yap AU, Wang X, Wu X, Chung SM (2004) Comparative hardness and modulus of tooth-colored restoratives: a depth-sensing microindentation study **Biomaterials** 25(11):2179-85.
31. Sangwichit K, Kingkaew R, Pongprueksa P, Senawongse P (2016) Effect of thermocycling on the durability of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin **Dent Mater J** v.35, n.3, p.360-68.
32. Reis BO, Proni ATM, Fagundes TC, Vasconcelos G, Bresciani E, Prakki A, dos Santos PH (2019) Influence of protease inhibitors on the degradation of sound, sclerotic and caries-affected demineralized dentin. **J Mech Behav Biomed Mater** May 7;97:1-6. doi: 10.1016/j.jmbbm.2019.05.003. [Epub ahead of print]
33. Vidal ALCM, Aguiar TR, Phansalkar R, Mcalpine JB, Napolitano JG, Chen SN, Araújo LS, Pauli GF, Bedran-Russo A (2014) Galloyl moieties enhance the dentin biomodification potential of plant-derived catechins **Acta Biomater** 10(7): 3288-3294.
34. Tezvergil-Mutluay A¹, Agee KA, Hoshika T, Carrilho M, Breschi L, Tjäderhane L, Nishitani Y, Carvalho RM, Looney S, Tay FR, Pashley DH (2010) The requirement of zinc and calcium ions for functional mmp activity in demineralized dentin matrices **Dent Mater** Nov;26(11):1059-67. doi: 10.1016/j.dental.2010.07.006. Epub 2010 Aug 4.

35. Cadenaro M, Breschi G, Antonioli F, Mazzoni A, di Lenarda R (2006) Influence of whitening on the degree of conversion of dental adhesives on dentin **Eur J Oral Sci** 114(3):257-62.
36. Takatsui F, Andrade MF, Neisser MP, Barros LA, & Loffredo LDE C (2012) CIE L*a*b*: comparison of digital images obtained photographically by manual and Automatic modes. **Brazilian Oral Research** 26(6) 578-583.
37. De Oliveira Gallinari M, Angelo Cintra LT, de Almeida Souza MB, Souza Barboza AC, Bueno Esteves LM, Fagundes TC, Fraga Briso AL (2019) Clinical analysis of color change and tooth sensitivity to violet LED during bleaching treatment: a case series with split-mouth design **Photodiagnosis Photodyn Ther**, 10.1016/j.pdpdt.2019.05.016.
38. de Souza Rastelli AN, Dias HB, Carrera ET, de Barros ACP, dos Santos DDL, Panhoca VH, Bagnato VS (2018) Violet LED associated to low concentration carbamide peroxide on the dental bleaching: A case report **Photodiagnosis Photodyn Ther**, 10.1016/j.pdpdt.2018.06.021.
39. Kiomars N, Azarpour P, Mirzaei M, Hashemi Kamangar SS, Kharazifard MJ, & Chiniforush N (2016) Evaluation of the Diode laser (810nm, 980 nm) on color change of teeth after external bleaching **Laser Therapy** 25(4) 267-272.
40. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G (2007) Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin **J Dent Res** 86(5):436-40.
41. da Silva Machado J, Cândido MS, Sundfeld RH, de Alexandre RS, Cardoso JD, Sundfeld ML (2007) The influence of time interval between bleaching and enamel bonding. **J Esthet Restor Dent**.19(2):111-8.
42. Dishman MV, Covey DA, Baughan LW (1994) The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. **Mater Dent** 10 (1): 33-6.
43. Lopes MB, Sinhoreti MA, Correr Sobrinho L, Consani S (2003) Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests **Pesqui Odontol Bras** 17(2):171-5.

44. Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T (1983) Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. **J Dent Res** Oct; 62 (10): 1076-81.
45. Tamura T, Tonami K, Takahashi H, Mataka S, Araki K, Kurosaki N (2008) Tensile strength of dentin after bleaching treatment. **J Med Dent Sci.** 55 (1): 175-80.
46. Abe AT, Youssef MN, Turbino ML (2016) Effect of Bleaching Agents on the Nanohardness of Tooth Enamel, Composite Resin, and the Tooth-Restoration Interface. **Oper Dent** 41(1):44-52. doi: 10.2341/14-153-L. Epub 2015 Aug 12.
47. Nudelman F, Pieterse K, George A, Bomans PH, Friedrich H, Brylka L, Hilbe P A, de With G, Sommerdijk NA (2010) The role of collagen in bone apatite formation in the presence of hydroxyapatite nucleation inhibitors. **Nat Mater** 9, 1004–1009.
48. Toledano M, Aguilera FS, Osorio E, Cabello I, Osorio R (2014) Microanalysis of Thermal-Induced Changes at the Resin–Dentin Interface. **Microsc. Microanal.** 20, 1218–1233doi:10.1017/S1431927614000944.
49. Berger SB, Pavan S, Vidal CDE M, Santos PH, Giannini M, Bedran-Russo AK (2012) Changes in the stiffness of demineralized dentin following application of tooth whitening agentes. **Acta Odontol Scand** 70(1):56-60. doi: 10.3109/00016357.2011.575176. Epub 2011 Apr 15.
50. Toledano M, Yamauti H, Osorio E, Osorio R (2011) Bleaching Agents Increase Metalloproteinases-mediated Collagen Degradation in Dentin **J Endod** 37(12):1668-72. doi: 10.1016/j.joen.2011.08.003. Epub 2011 Sep 16.
51. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L (2007) Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin **Arch Oral Biol** 52(2):121-7. Epub 2006 Oct 12
52. Priyadarshini BM, Lu TB, Fawzy AS (2017) Effect of photoactivated riboflavin on the biodegradation-resistance of root-dentin collagen **J Photochem**

Photobiol B 177:18-23. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.10.012. Epub 2017 Oct

8. 10.1016/j.jphotobiol.2017.10.012

Anexos

ANEXO I – Certificado Comitê de ética Animal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

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

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "Clareamento dentário com luz violeta: efeitos na alteração cromática, resistência de união, nanodureza da camada híbrida e resistência do colágeno", Processo FOA nº 00417-2017, sob responsabilidade de André Luiz Fraga Briso apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 14 de Junho de 2017.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Julho de 2019.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Agosto de 2019.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "Dental bleaching with violet light: Effects on chromatic change, bonding strength, hybrid layer nanohardness and collagen strength", Protocol FOA nº 00417-2017, under the supervision of André Luiz Fraga Briso presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on June 14, 2017.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: July 30, 2019.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: August 30, 2019.

Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br

Anexo II – Normas da Revista (Operative Dentistry)

Link para acessar as normas: <https://www.jopdent.com/authors/authors.php>