

**ANA CAROLINA BOTTA MARTINS DE OLIVEIRA**

**EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E DE AGENTES  
ANTIOXIDANTES SOBRE A RUGOSIDADE SUPERFICIAL, A  
MORFOLOGIA E A FORÇA DE ADESÃO DO ESMALTE E DA  
DENTINA**



2011

**ANA CAROLINA BOTTA MARTINS DE OLIVEIRA**

**EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E DE AGENTES  
ANTIOXIDANTES SOBRE A RUGOSIDADE SUPERFICIAL, A  
MORFOLOGIA E A FORÇA DE ADESÃO DO ESMALTE E DA DENTINA**

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

Orientador: Prof. Adjunto Clovis Pagani  
Co-orientador: Prof. Dr. Sillas Duarte Júnior

São José dos Campos

2011

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:  
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para  
Normalização de Trabalhos Acadêmicos da FOSJC. São José dos  
Campos: FOSJC/UNESP; 2010.

O4e Oliveira, Ana Carolina Botta Martins de  
Efeito do peróxido de hidrogênio e de agentes antioxidantes sobre a  
rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão do esmalte e da  
dentina / Ana Carolina Botta Martins de Oliveira. \_\_ São José dos Campos:  
[s.n.], 2011  
155f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia  
de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Clovis Pagani

Co-orientador: Prof. Dr. Sillas Duarte Júnior

1. Peróxido de hidrogênio. 2. Esmalte dentário. 3. Dentina. 4. Microscopia de  
força atômica. 5. Resistência à tração. 6. Microscópio eletrônico de varredura.  
I. Pagani, Clovis. II. Universidade Estadual Paulista Faculdade de Odontologia  
de São José dos Campos. III. Título

tD25

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da  
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

## AUTORIZAÇÃO

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

São José dos Campos, 11 de julho de 2011.

Assinatura:

E-mail: anacarolinabotta@hotmail.com

## **BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Adjunto Clovis Pagani** (Orientador)

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos  
UNESP – Univ Estadual Paulista

**Prof. Doutor César Rogério Pucci**

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos  
UNESP – Univ Estadual Paulista

**Prof. Doutor Edson Alves de Campos**

Faculdade de Odontologia de Araraquara  
UNESP – Univ Estadual Paulista

**Prof. Adjunto Victor Humberto Orbegoso Flores**

Faculdade de Odontologia  
UNIFAL - Universidade Federal de Alfenas

**Prof. Doutor Eduardo Galera da Silva**

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos  
UNESP – Univ Estadual Paulista

São José dos Campos, 11 de julho de 2011.

## DEDICATÓRIA

**À Deus e à São Judas Tadeu** pela proteção e companhia em todos os momentos.

Aos meus **pais**, Caio e Maria Amélia, pelo amor e apoio incondicional. Por não medirem esforços e me incentivarem constantemente. Vocês são meus alicerces e os responsáveis por todas as minhas conquistas.

Aos meus **irmãos**, Caio e Ana Luísa, por estarem sempre ao meu lado, torcendo pela minha vitória e dispostos a me ajudar quando mais preciso.

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao **meu orientador, Prof. Adjunto Clovis Pagani**, por ter confiado em meu trabalho desde o início, por ter me deixado a vontade para realização das atividades acadêmicas, por sempre me atender de prontidão e não medir esforços para me ajudar. Obrigada pelo excelente convívio, pela liberdade no desenvolvimento do projeto de doutorado e pelo empenho para que eu tivesse todas as condições para a realização do Doutorado Sanduíche e participação nos congressos internacionais.

Ao **meu co-orientador, Prof. Dr. Sillas Duarte Júnior**, que me ensinou a caminhar pelo meio acadêmico, me orientando desde a graduação em meus primeiros passos durante a Iniciação Científica. Foi meu orientador no Mestrado e também no Doutorado Sanduíche. Sempre me incentivou e me deu todo o suporte necessário para que eu pudesse executar as atividades da melhor forma possível. Com este educador maravilhoso aprendi a ser mais coerente e crítica em minha vida profissional. Por meio de seus exemplos virtuosos, me transmitiu ensinamentos que transpõem os científicos, abrangendo verdadeiras lições de vida. Obrigada pela amizade, por fazer parte da minha vida, confiar em mim e proporcionar a oportunidade de crescer profissionalmente e também como ser humano.

## **AGRADECIMENTOS**

À **Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP**, representada pelo diretor Prof. Dr. José Roberto Rodrigues e pelo vice-diretor Prof. Dr. Carlos Augusto Pavanelli.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora** da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, representada pela Profa. Dra. Marcia Carneiro Valera Garakis, pela oportunidade de realizar o curso de doutorado.

Aos **professores da banca examinadora: Prof. Dr. César Rogério Pucci, Prof. Dr. Edson Alves de Campos, Prof. Adjunto Victor Humberto Orbegoso Flores e Prof. Dr. Eduardo Galera da Silva** por aceitarem prontamente o meu convite e me darem a honra de fazerem parte da minha defesa de doutorado.

Aos **professores da Disciplina de Dentística: Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges, Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres, Prof. Dr. João Cândido de Carvalho, Profa. Dra. Maria Amélia Máximo de Araújo e Profa. Dra. Maria Filomena R. Lima Huhtala**, pela atenção e pelos ensinamentos.

Aos **funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora e da Secretaria de Pós-Graduação**, pelo auxílio na condução das atividades e resolução dos problemas.

Aos **meus colegas do curso de Pós-Graduação** pela convivência e incentivo.

Ao **Prof. Ivan Balducci** pelo imenso auxílio na análise estatística.

À **Profa. Dra. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia**, por ter despertado em mim o interesse pela pesquisa e a vontade de ser professora. Foi minha primeira orientadora, ainda durante a graduação, sempre muito atenciosa e pensando no meu futuro. Por ser além de minha colega de trabalho e amiga conselheira, a minha segunda mãe.

À **CAPES** pelo financiamento das bolsas de doutorado e de estágio de doutorando no exterior (PDEE).

À **Case Western Reserve University**, em especial ao Department of Comprehensive Care, por ter me aceitado como pesquisadora e instrutora por 1 ano e três meses, enriquecendo meu aprendizado.

Ao **Prof. Dr. Avishai Sadan**, que antes mesmo de me conhecer confiou em mim e em meu trabalho, sempre me incentivando e dando todo o apoio necessário para que eu crescesse profissionalmente.

Ao **Prof. Dr. Jin-Ho Phark**, que sempre se mostrou muito solícito, me auxiliando na execução das pesquisas, no monitoramento dos equipamentos e nas aulas práticas. Com o passar do tempo se tornou um grande amigo e companheiro de laboratório. Muito obrigada pela paciência e por toda sua dedicação.



À **Profa. Dra. Fabiana Mansur Varjão**, que me ajudou desde o início em minha adaptação aos Estados Unidos, me acolhendo em sua casa, me levando às compras e me auxiliando com o inglês. Sua amizade e apoio foram essenciais para que eu pudesse realizar meus projetos pessoais e científicos.

Aos **demais professores da Case Western Reserve University**, em especial à Angela R. Graves, T. Roma Jasinevicus e H. Assaf que me acolheram como instrutora nas aulas práticas de suas disciplinas. Agradeço pela atenção e imenso aprendizado.

À **Margaret Behnke**, secretária do Department of Comprehensive Care, pela paciência, amizade e auxílio na execução das atividades na Case Western Reserve University.

Ao **Hal Kahn**, pelo auxílio no treinamento de microscopia de força atômica e pelo esclarecimento de dúvidas e disponibilização de horários.

Ao **Bill**, funcionário da Case Western Reserve University, por ter sido sempre muito atencioso comigo e principalmente por ter me feito sorrir todos os dias com suas histórias engraçadas e sua companhia.

Aos **alunos do primeiro, segundo e terceiro ano da graduação da Case Western Reserve University**, pelo apoio, aprendizado e amizade.

À **Millie**, minha melhor amiga americana, por sua paciência e ajuda constante. Aprendi com você que amizade verdadeira se cultiva a vida inteira e não se enfraquece com o tempo nem com a distância. Obrigada pela

companhia, risadas, conselhos e por cada momento que passamos juntas nos Estados Unidos e no Brasil.

Ao **Eric Vilarreal, sua esposa Dana e suas filhas Audrey, Josie e Kamryn** que me acolheram como membro da família durante minha estadia nos Estados Unidos. A companhia de vocês foi fundamental para minha adaptação e crescimento pessoal. Obrigada por confiarem em mim sem mesmo me conhecer direito e por terem me dado o privilégio de conviver com vocês. Jamais esquecerei o primeiro jantar, o Natal e o acampamento das crianças em minha casa. Sou muito grata pela paciência, amizade e aprendizado. Amo muito vocês.

Ao meu cunhado **José Fernando** por todo seu carinho e dedicação a mim e à minha família. Está sempre disposto a ajudar no que for preciso, disponibilizando muito do seu tempo. Agradeço em especial seu auxílio na confecção dos esquemas em terceira dimensão que ilustram a metodologia da tese.

À toda minha **família** por acompanhar de perto todos os meus passos, pela compreensão e apoio constante principalmente nos momentos mais difíceis.

À todos meus **amigos** pelo apoio reconfortante mesmo que à distância.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	14
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
<b>2.1 Efeitos de agentes clareadores sobre a rugosidade superficial do esmalte e da dentina</b> .....	18
<b>2.2 Efeitos de agentes clareadores sobre as características morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina</b> .....	24
<b>2.3 Efeitos de agentes clareadores sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina</b> .....	34
<b>2.4 Efeitos de agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina após o clareamento</b> .....	39
<b>3 PROPOSIÇÃO</b> .....	50
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	51
<b>4.1 Avaliação do efeito do tratamento clareador e de agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial do esmalte e da dentina, através do Microscópio de Força Atômica</b> .....	51
4.1.1 Preparo dos dentes.....	52
4.1.2 Clareamento dental.....	54
4.1.3 Aplicação de agentes antioxidantes.....	54
4.1.4 Avaliação da rugosidade superficial.....	57
4.1.5 Análise estatística.....	59

<b>4.2 Avaliação do efeito do tratamento clareador e de agentes antioxidantes sobre a morfologia do esmalte e da dentina.....</b>	<b>60</b>
4.2.1 Preparo dos dentes.....	60
4.2.2 Clareamento dental.....	61
4.2.3 Aplicação dos agentes antioxidantes.....	62
4.2.4 Avaliação morfológica e estrutural.....	62
4.2.5 Análise dos dados.....	64
<b>4.3 Avaliação do efeito do tratamento clareador e de agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina imediata e após o envelhecimento artificial das restaurações.....</b>	<b>64</b>
4.3.1 Preparo dos dentes para microtração em esmalte.....	64
4.3.2 Preparo dos dentes para microtração em dentina.....	65
4.3.3 Análise da força de adesão.....	66
4.3.4 Clareamento dental.....	67
4.3.5 Aplicação dos agentes antioxidantes.....	68
4.3.6 Confecção das restaurações de resina composta.....	68
4.3.7 Envelhecimento artificial.....	69
4.3.8 Obtenção dos espécimes para o teste de microtração.....	71
4.3.9 Teste de microtração.....	71
4.10 Análise estatística.....	73
<b>5 RESULTADO.....</b>	<b>75</b>
<b>5.1 Rugosidade superficial.....</b>	<b>75</b>
5.1.1 Esmalte.....	75
5.1.1.1 Estatística descritiva.....	75
5.1.1.2 Estatística inferencial.....	76
5.1.1.3 Análise qualitativa.....	78
5.1.2 Dentina.....	81
5.1.2.1 Estatística descritiva.....	81
5.1.2.2 Estatística inferencial.....	83

5.1.2.3 Análise qualitativa.....	84
<b>5.2 Morfologia superficial.....</b>	<b>87</b>
5.2.1 Esmalte.....	87
5.2.2 Dentina.....	93
<b>5.3 Força de adesão.....</b>	<b>98</b>
5.3.1 Esmalte.....	98
5.3.1.1 Estatística descritiva.....	98
5.3.1.2 Estatística inferencial.....	102
5.3.2 Dentina.....	107
5.3.2.1 Estatística descritiva.....	107
5.3.2.2 Estatística inferencial.....	111
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>115</b>
<b>6.1 Rugosidade superficial.....</b>	<b>116</b>
6.1.1 Esmalte.....	116
6.1.2 Dentina.....	120
<b>6.2 Morfologia superficial.....</b>	<b>121</b>
6.2.1 Esmalte.....	121
6.2.2 Dentina.....	124
<b>6.3 Força de adesão.....</b>	<b>126</b>
6.3.1 Esmalte.....	126
6.3.2 Dentina.....	132
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>135</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>136</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>147</b>
<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>148</b>
<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>149</b>
<b>APÊNDICE D.....</b>	<b>151</b>
<b>APÊNDICE E.....</b>	<b>152</b>

<b>APÉNDICE F.....</b>	<b>154</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>155</b>

Oliveira ACBM. Efeito do peróxido de hidrogênio e de agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão do esmalte e da dentina [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2011.

## RESUMO

Este estudo avaliou o efeito do peróxido de hidrogênio a 38% e de diferentes agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão do esmalte e da dentina. Trinta e seis terceiros molares recém extraídos foram selecionados e distribuídos aleatoriamente em 12 grupos (n=6) de acordo com: 1) substrato (esmalte ou dentina), 2) clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%, 3) aplicação dos agentes antioxidantes (ascorbato de sódio, catalase e peroxidase), 4) momento (24 horas e envelhecimento artificial). Os grupos foram clareados com peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost) e restaurados com Single Bond Plus+Filtek Z250. Os espécimes foram testados após 24 horas e após o envelhecimento artificial (20000 ciclos térmicos e 1200000 ciclos mastigatórios). Os dados foram submetidos ao Teste de Kruskal-Wallis e à comparações múltiplas a 5% de significância. Além disso, nove incisivos centrais e 32 terceiros molares foram selecionados e avaliados pelo Microscópio de força atômica e Microscópio eletrônico de varredura por Emissão de Campo. A rugosidade média do esmalte e da dentina (n=9) e a sua morfologia (n=3) foram avaliadas em três diferentes períodos: 1) antes do clareamento, 2) depois do clareamento e 3) depois da aplicação dos agentes antioxidantes. A análise de variância de 1 fator e o Teste de Tukey foram realizados a 5 % de significância para avaliar a rugosidade. A peroxidase aumentou a rugosidade superficial do esmalte ( $P<,0001$ ). O peróxido de hidrogênio a 38% e todos os agentes antioxidantes aumentaram a rugosidade da dentina ( $P<,0001$ ). Uma leve descalcificação superficial do esmalte foi observada após o clareamento. A smear layer não foi removida independente do tratamento usado. A força de adesão ao esmalte e à dentina foi reduzida após o clareamento e após a aplicação dos agentes antioxidantes. Os agentes antioxidantes não foram capazes de reverter a força de adesão ao esmalte e à dentina clareados. O esmalte e a dentina clareados podem ser restaurados efetivamente 7 dias após o clareamento.

Palavras-chave: Peróxido de hidrogênio. Esmalte dentário. Dentina. Microscopia de força atômica. Resistência à tração. Microscópio eletrônico de varredura.

Oliveira ACBM. *Effect of hydrogen peroxide and antioxidant agents on surface roughness, ultramorphology and microtensile bond strengths to enamel and dentin [doctorate thesis].* São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – São Paulo State University; 2011.

## **ABSTRACT**

*The aim of this study was to assess the effect of 38% hydrogen peroxide and different antioxidant agents on surface roughness, ultra-structural morphology, and microtensile bond strengths to enamel and dentin. Thirty-six freshly extracted third molars were selected and randomly assigned into 12 groups (n=6) according to: 1) substrate (enamel or dentin), 2) bleaching with 38% hydrogen peroxide, 3) application of antioxidant agents (sodium ascorbate, catalase and peroxidase), and 4) moment (24 hours and artificially aged). Groups were bleached with 38% hydrogen peroxide (Opalescence Boost) and restored with Single Bond Plus+Filtek Z250. The specimens were tested after 24 hours and after long-term artificial aging (20,000 thermal cycles and 1,200,000 mechanical loading cycles). The data were submitted to Kruskal-Wallis analysis followed by multiple comparisons (P<.05). Additionally, nine central incisors and thirty-two third molars were selected and processed for Atomic Force Microscopy and Field Emission Scanning Electron Microscopy. The mean enamel and dentin roughness (n=9) and ultra-structural morphology (n=3) were evaluated in different periods: 1) before the bleaching, 2) after the bleaching, and 3) after the application of the antioxidant agents. A 1-way ANOVA/Tukey post-hoc test (P<.05) was computed for roughness. Peroxidase increased significantly enamel roughness (P<.0001). The 38% hydrogen peroxide and all antioxidant agents increased significantly dentin roughness (P<.0001). A mild etching pattern was observed on enamel after bleaching. Smear layer was not removed irrespective of the treatment used. The microtensile bond strengths to enamel and dentin were reduced after bleaching and after application of antioxidant agents. Antioxidant agents were not effective in reversing bond strengths of bleached enamel and dentin. Bleached enamel and dentin can be effectively restored 7 days post-bleaching.*

*Keywords: Hydrogen peroxide. Dental enamel. Dentin. Atomic force microscopy. Tensile strength. Scanning electron microscopy.*



## 1 INTRODUÇÃO

O clareamento dental com peróxido de hidrogênio 30-38% é um tratamento conservador estético, amplamente utilizado nos consultórios odontológicos para remoção de manchas intrínsecas e extrínsecas. Apesar das vantagens oferecidas por este tratamento, efeitos adversos podem se observados como alterações morfológicas e estruturais no esmalte (Hegedüs et al., 1999; Miranda et al., 2005) e na dentina (Chng et al., 2005), redução na força de adesão (Lai et al., 2001, 2002) e aumento da rugosidade superficial (Hegedüs et al., 1999; Hosoya et al., 2003).

Superfícies rugosas contribuem para o acúmulo de placa bacteriana, detritos e corantes, que além de causarem irritação gengival e risco de cárie, tornam possíveis as descolorações e degradações superficiais (Hosoya et al., 2003).

A alteração da rugosidade superficial e a suscetibilidade ao manchamento após o clareamento podem ser causadas pelo aumento da permeabilidade da dentina (Goracci et al., 2004) e porosidade do esmalte (Hegedüs et al., 1999), perda de cálcio (Hosoya et al., 2003) e formação prismática (Josey et al., 1996). A diminuição da força de adesão está relacionada à mudança na composição orgânica do esmalte e da dentina (Chng et al., 2005; Hegedüs et al., 1999; Lai et al., 2002), redução da microdureza (Chng et al., 2005; Miranda et al., 2005) e presença de oxigênio residual que inibe a polimerização adesiva (Bulut et al., 2005; Hegedüs et al., 1999; Türkün, Kaya, 2004).

A queda da resistência adesiva pode ser revertida pelo uso de substâncias antioxidantes imediatamente após o tratamento clareador e anteriormente ao procedimento restaurador adesivo (Lai et al., 2001, 2002).

Os agentes antioxidantes aceleram a liberação completa do oxigênio residual presente nas estruturas de esmalte e dentina após o clareamento dental e reduzem os radicais livres, restabelecendo a resistência adesiva e o selamento marginal (Rose, Bode, 1993; Türkün, Kaya, 2004). Diferentes agentes antioxidantes podem ser usados para restabelecer a força de adesão de restaurações de resina composta ao esmalte e à dentina. Agentes enzimáticos como a catalase (Kum et al., 2004) e a peroxidase e não enzimáticos como o ascorbato de sódio (Bulut et al., 2006; Lai et al., 2001, 2002; Türkün, Kaya, 2004), os flavonóides (Hassimotto et al., 2005), o ácido úrico, o óxido nítrico, a bilirrubina e as vitaminas A e E apresentam ação neutralizadora.

Alguns estudos (Bulut et al., 2006; Kum et al., 2004; Lai et al., 2001, 2002; Türkün, Kaya, 2004) avaliaram o efeito de agentes antioxidantes sobre a força de adesão a estrutura dental após o tratamento clareador. Entretanto, nenhuma análise *in vitro* a longo prazo foi realizada. A adesão de uma restauração as estruturas dentais imediatamente após o clareamento e a aplicação de substâncias antioxidantes pode não ser a mesma com o passar dos anos, devido à incidência de forças mastigatórias e alterações térmicas.

Além disso, não está descrito na literatura a ação que os agentes antioxidantes exercem sobre a rugosidade superficial do esmalte e da dentina. Ainda é desconhecido se as alterações morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina decorrentes da ação oxidante do peróxido de hidrogênio são reversíveis e se os agentes antioxidantes são capazes de reduzir a rugosidade superficial após o clareamento dental.

Assim, tornou-se importante avaliar o efeito do tratamento clareador e de diferentes agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão do esmalte e da dentina imediata e após o envelhecimento artificial das restaurações.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A elaboração desta revisão da literatura, sem a pretensão de esgotar o assunto, teve por objetivo abordar algumas das mais relevantes pesquisas sobre os efeitos de agentes clareadores e antioxidantes sobre a rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão do esmalte e da dentina.

### 2.1 Efeitos de agentes clareadores sobre a rugosidade superficial do esmalte e da dentina

Hosoya et al. (2003) observaram *in vitro* a influência do tratamento clareador sobre a rugosidade superficial e a adesão de *Streptococcus mutans* ao esmalte dental. As superfícies vestibular e lingual de setenta terceiros molares humanos foram distribuídas em sete grupos experimentais clareados com peróxido de hidrogênio a 35% (Hi-Lite, Shofu) e um grupo controle (sem clareamento). Os espécimes dos grupos 1, 2 e 3 receberam um, três e cinco tratamentos com agente clareador, respectivamente. Os grupos 4, 5 e 6 foram condicionados com ácido fosfórico a 40% antes da aplicação do clareamento por uma, três e cinco vezes, respectivamente. O grupo 7 não recebeu tratamento clareador, sendo apenas condicionado. Os espécimes do grupo controle foram mantidos em solução salina. Cada tratamento com Hi-Lite correspondeu à aplicação do

produto por 20 minutos até o término da reação química. A rugosidade média superficial (Ra) foi avaliada por um rugosímetro de não contato e a aderência bacteriana pelo microscópio eletrônico de varredura. A aderência bacteriana foi maior nos grupos experimentais do que no grupo controle. A maior formação de colônias bacterianas foi observada com o tratamento ácido e cinco aplicações do peróxido de hidrogênio. A rugosidade superficial do esmalte aumentou com o condicionamento ácido e com os tratamentos clareadores, porém não houve diferença entre as condições clareadoras. Não houve correlação entre rugosidade superficial e aderência bacteriana. Os autores concluíram que a rugosidade superficial e a adesão de *Streptococcus mutans* ao esmalte aumentaram após o clareamento.

O efeito de agentes clareadores sobre a morfologia e a rugosidade superficial do esmalte e da dentina humana foi avaliado por Cobankara et al. (2004). As superfícies de esmalte e dentina de incisivos inferiores humanos foram clareadas com peróxido de carbamida a 10 e a 15% e analisadas pelo rugosímetro e pelo microscópio eletrônico de varredura em diferentes momentos: antes, depois de 4 e 28 horas do tratamento clareador. Os espécimes do grupo controle não foram clareados e mantidos em água destilada. O clareamento com peróxido de carbamida a 10 e 15% não alterou a rugosidade superficial do esmalte e da dentina, independente do tempo. Concluiu-se que o clareamento caseiro supervisionado pode ser usado para remoção de manchas em esmalte e dentina, sem causar danos a estas superfícies.

Pinto et al. (2004) avaliaram os efeitos de diferentes agentes clareadores sobre a rugosidade, a dureza e a morfologia superficial do esmalte dental. As superfícies de esmalte de terceiros molares humanos foram clareadas com peróxido de carbamida a 3, 10 e 35% e com peróxido de hidrogênio a 7,5 e 35%. Um grupo controle foi formado por espécimes sem clareamento, armazenados em saliva artificial. A rugosidade, a dureza e

a morfologia superficial foram avaliadas pelo perfilômetro, indentor Knoop e microscópio eletrônico de varredura, respectivamente. Os peróxidos de carbamida e de hidrogênio nas diferentes concentrações testadas promoveram aumento da rugosidade, diminuição da dureza e alterações na morfologia do esmalte.

Basting et al. (2007) observaram *in situ* a rugosidade e a morfologia superficial do esmalte e da dentina clareados com peróxido de carbamida a 10% por 3 semanas. Amostras de esmalte e dentina íntegras e desmineralizadas foram fixadas às superfícies vestibulares de molares e pré-molares superiores de 10 voluntários e submetidas ao clareamento ou ao tratamento placebo (controle). O clareamento com peróxido de carbamida a 10% aumentou a rugosidade superficial do esmalte íntegro e desmineralizado. Não houve diferença entre a dentina hígida e desmineralizada com o tratamento clareador e placebo.

Faraoni-Romano et al. (2007) analisaram a rugosidade e a dureza superficial do esmalte e da dentina radicular bovinos clareados com peróxido de carbamida a 10, 15 e 22%. O clareamento foi realizado diariamente por 2 horas durante 21 dias. O grupo controle foi formado por espécimes de esmalte e dentina sem clareamento, armazenados em saliva artificial. A dureza Knoop e a rugosidade superficial foram avaliadas antes e após o clareamento. A dureza e a rugosidade superficial do esmalte e da dentina bovinos não foram alteradas pelo clareamento com peróxido de carbamida nas diferentes concentrações avaliadas. Os mesmos autores em 2008, usando metodologia similar verificaram que o a aplicação do peróxido de hidrogênio a 7,5 e 38% e a associação de peróxido de hidrogênio a 18% com carbamida a 22%, não afetaram a rugosidade do esmalte e da dentina.

Markovic et al. (2007) avaliaram as alterações na rugosidade superficial do esmalte após o clareamento com peróxido de carbamida a 10 e 16% durante 4 horas por 7 dias. As rugosidades média e total do esmalte

aumentaram após 7 dias de clareamento, independente da concentração utilizada.

Cadenaro et al. (2008) observaram os efeitos *in vivo* do peróxido de hidrogênio a 38% e peróxido de carbamida a 35% sobre a rugosidade e morfologia do esmalte. As aplicações dos agentes clareadores foram realizadas por quatro vezes com intervalos semanais. Réplicas do esmalte foram feitas com resina epóxica em diferentes momentos: antes do clareamento; após 1, 2, 3 e 4 semanas de tratamento clareador. A rugosidade superficial foi avaliada pelo rugosímetro de não-contato e a morfologia pelo microscópio eletrônico de varredura. A rugosidade e a morfologia superficial do esmalte *in vivo* não foram afetadas pelo clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% e de carbamida a 35%, independente do número de aplicações. Os mesmos autores em 2010 concluíram que o peróxido de hidrogênio a 38% não altera a rugosidade e a morfologia do esmalte mesmo após o uso prolongado e múltiplas aplicações.

Mielczarek et al. (2008) avaliaram a rugosidade, a dureza superficial e alteração de cor do esmalte humano após o tratamento com diferentes agentes clareadores: Opalescence Xtra Boost por 45 minutos, Opalescence 20% PF e Crest Whitestrips Supreme por 42 horas. O clareamento reduziu a coloração amarelada do esmalte. A rugosidade e a dureza superficial não foram afetadas pelo clareamento. Os autores concluíram que os agentes clareadores testados são seguros ao esmalte por manterem a sua rugosidade e dureza iniciais.

O efeito do peróxido de hidrogênio a 35% sobre a rugosidade da interface resina-esmalte foi verificada por Dutra et al. (2009). Cavidades classe V foram restauradas com resina composta e receberam sete aplicações do gel clareador por 30 minutos cada. A rugosidade superficial foi avaliada antes e após o clareamento com um rugosímetro e microscópio eletrônico de varredura. O clareamento não alterou a interface dente-

restauração porém, aumentou a rugosidade superficial do esmalte e da resina composta, que foram caracterizados por inúmeras depressões.

Através da microscopia de força atômica, Mahringer et al. (2009), avaliaram a ação a rugosidade superficial do esmalte após o clareamento com peróxido de carbamida a 30% em diferentes tempos. A rugosidade foi aumentada após 1 hora de clareamento decorrente da oxidação e subsequente quebra das proteínas presentes na matriz do esmalte. Nenhuma alteração foi observada após 6 horas de clareamento.

Mondelli et al. (2009) observaram o efeito do clareamento e da escovação sobre a rugosidade superficial do esmalte bovino. Os peróxidos de carbamida a 16% e de hidrogênio a 35% não causaram nenhuma alteração na rugosidade superficial do esmalte bovino. Porém, a associação do clareamento com escovação simulada, aumentou além da rugosidade do esmalte, também o seu desgaste.

Abouassi et al. (2010) avaliaram a rugosidade e a dureza do esmalte bovino após o clareamento com peróxidos de carbamida e de hidrogênio por 2 horas, durante 2 semanas. As alterações observadas foram dependentes da concentração do agente clareador. Os peróxidos de hidrogênio a 10% e de carbamida a 35% aumentaram de forma significativa a rugosidade e dureza do esmalte, sendo que as maiores alterações foram obtidas com o peróxido de hidrogênio. Concentrações menores dos agentes clareadores (peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio a 3,5%) não alteraram a superfície do esmalte.

A rugosidade do esmalte intacto e erosivo foi verificada após o clareamento por Azrak et al. (2010). Os espécimes foram clareados com peróxido de hidrogênio a 7,5% ou 13,5% e peróxido de carbamida a 35%, contendo pH de 4,9 a 10,8. Os agentes clareadores com baixo pH e alta concentração de peróxido aumentaram a rugosidade do esmalte hígido e erosivo. Entretanto, o pH teve maior influência sobre a rugosidade do que a



concentração do agente clareador. O esmalte erosivo apresentou-se mais danificado após o clareamento.

Mahmoud et al. (2010) investigaram, através do microscópio de força atômica, o efeito do peróxido de carbamida a 16% sobre a rugosidade e morfologia do esmalte e dentina radicular em pacientes saudáveis e com uremia. O grupo controle foi constituído de espécimes não clareados e conservados em saliva artificial, enquanto que os grupos experimentais foram clareados por 8 horas durante 14 dias. O clareamento promoveu grandes irregularidades nos prismas, principalmente no esmalte de pacientes saudáveis. O clareamento evidenciou a dentina peritubular e causou erosão na dentina intertubular. A rugosidade do esmalte e da dentina aumentou após o clareamento porém, foi menor em pacientes com uremia.

Martin et al. (2010), verificaram o efeito do flúor sobre a rugosidade do esmalte clareado com peróxido de carbamida a 16% e peróxido de hidrogênio a 35%. Diferentes tipos de flúor foram testados: fluoreto de sódio a 0,05 de uso diário, fluoreto de sódio a 0,2% de uso semanal e flúor tópico a 2% usado antes e/ou após o clareamento. A rugosidade superficial do esmalte foi aumentada após o tratamento clareador. Entretanto, a aplicação tópica de flúor a 2% foi capaz de reduzir a rugosidade do esmalte clareado.

Ito e Momoi (2011) avaliaram o efeito da mistura de carbonato de hidrogênio sódico ( $\text{NaHCO}_3$ ) com peróxido de hidrogênio a 30% sobre a alteração de cor, dureza, profundidade de erosão, rugosidade e morfologia superficial do esmalte. A adição de  $\text{NaHCO}_3$  aumentou o pH do agente clareador, promovendo conseqüentemente uma menor rugosidade e erosão do esmalte quando comparado ao peróxido de hidrogênio a 35%.

## **2.2 Efeitos de agentes clareadores sobre as características morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina**

Titley et al. (1988) avaliaram o efeito de soluções de peróxido de hidrogênio sobre a morfologia superficial do esmalte dental humano. Espécimes de esmalte foram expostos a soluções de peróxido de hidrogênio por períodos de 1 a 60 minutos. Alguns espécimes foram submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 60 segundos antes ou após o clareamento. Os espécimes do grupo controle foram mantidos em solução salina. O clareamento com peróxido de hidrogênio produziu um precipitado na superfície do esmalte. A quantidade de precipitado foi diretamente proporcional ao tempo de exposição ao peróxido de hidrogênio. A associação de peróxido de hidrogênio e condicionamento ácido promoveu uma maior formação de precipitados e um aspecto mais poroso ao esmalte em relação ao grupo controle.

Ruse et al. (1990) avaliaram as possíveis mudanças na composição do esmalte causadas pelo clareamento com peróxido de hidrogênio. As superfícies vestibulares de diferentes dentes bovinos foram divididas em secções e submetidas à profilaxia e ao desgaste. Uma secção de cada dente foi separada como controle e as demais receberam um dos seguintes tratamentos: 1) clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% por 60 minutos; 2) condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 60 segundos; 3) clareamento seguido por condicionamento ácido; 4) condicionamento ácido seguido por clareamento. Os espécimes foram submetidos à espectroscopia fotoeletrônica de raios X e espectroscopia de massa iônica secundária para análise da composição do esmalte. O condicionamento ácido do esmalte promoveu uma redução nas concentrações de cálcio e fósforo e um aumento de carbono e nitrogênio em

algumas regiões. A exposição do esmalte ao peróxido de hidrogênio a 35% não causou alterações significantes na composição química do mesmo. Os autores sugerem que a diminuição da resistência adesiva ao esmalte clareado, observada em estudos prévios, não pode ser relacionada a alterações químicas deste.

Ernst et al. (1996) estudaram os efeitos de diferentes técnicas de clareamento dental e do condicionamento ácido sobre a morfologia superficial do esmalte dental humano. Dez incisivos humanos foram seccionados para obtenção de 60 espécimes de esmalte, sobre os quais foram aplicados os seguintes agentes clareadores: peróxido de carbamida a 10% (Opalescence, Ultradent), peróxido de hidrogênio a 30% (Hi-Lite, Shofu Dental), solução de peróxido de hidrogênio a 30% e peróxido de hidrogênio a 30% associado ao perborato de sódio. Espécimes usados como controle negativo (sem clareamento) e como controle positivo (submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico a 37%) foram preparados. Todos os espécimes foram examinados ao microscópio eletrônico de varredura. O esmalte exposto aos agentes clareadores apresentou leves alterações morfológicas, porém o esmalte exposto ao ácido fosfórico sofreu severas alterações morfológicas. Os autores concluíram que a aplicação de agentes clareadores sobre o esmalte não parece afetar a superfície do mesmo.

Rotstein et al. (1996) avaliaram *in vitro* o efeito do clareamento sobre a estrutura química do esmalte, dentina e cemento de pré-molares humanos. Os espécimes foram clareados com solução de peróxido de hidrogênio a 30%, solução de peróxido de carbamida a 10%, pasta de perborato de sódio e três géis clareadores caseiros (Nu-Smile, Opalescence e Dental Bright) por sete dias. Os espécimes do grupo controle foram armazenados em solução salina. Os espécimes foram analisados em microscópio eletrônico de varredura e espectrômetro de energia dispersiva. A

maioria dos agentes clareadores causou mudanças nos níveis de cálcio, fósforo, sulfato e potássio nos tecidos. No esmalte, os níveis de cálcio reduziram significativamente após o tratamento com peróxido de hidrogênio a 30% e aumentaram com o uso do peróxido de carbamida a 10%. Na dentina, foi verificada uma redução significativa nos níveis de cálcio com o tratamento de peróxido de hidrogênio a 30%, peróxido de carbamida a 10%, Opalescence e Dental Bright. No cemento, houve uma significativa redução nos níveis de cálcio após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 30%, Nu-Smile e Opalescence. As taxas de cálcio e fósforo diminuíram com maior intensidade na dentina e no cemento do que no esmalte, provavelmente devido às diferenças nos componentes orgânicos e inorgânicos destes tecidos. O peróxido de hidrogênio a 30% foi o único agente clareador que reduziu significativamente as taxas de cálcio e fósforo dos tecidos dentários. Concluiu-se que os agentes clareadores podem causar danos aos tecidos dentários e por isso devem ser usados com cautela.

Zalkind et al. (1996) avaliaram as alterações morfológicas no esmalte, dentina e cemento humanos após o clareamento dental. Pré-molares humanos hígidos foram seccionados e distribuídos em seis grupos experimentais de acordo com os agentes clareadores utilizados: solução de peróxido de hidrogênio a 30%, solução de peróxido de carbamida a 10%, perborato de sódio e água, Nu-Smile (M&M Innovations), Opalescence (Ultradent) e DentalBright (Cura Pharm). Os espécimes foram analisados em microscópio eletrônico de varredura após o clareamento. Alterações morfológicas foram observadas em todas as superfícies dentais clareadas, sendo mais pronunciadas com o uso do peróxido de hidrogênio a 30% e do DentalBright. O cemento foi o tecido dental que apresentou as maiores alterações superficiais principalmente com peróxido de hidrogênio a 30%, DentalBright, Nu-Smile e Opalescence.

Gultz et al. (1999) analisaram através do microscópio eletrônico de varredura os efeitos do condicionamento ácido a 35% e de agentes clareadores (peróxido de carbamida e de hidrogênio a 35%) sobre a morfologia superficial do esmalte humano. Apenas os espécimes tratados com ácido fosfórico exibiram um padrão característico de condicionamento ácido da superfície de esmalte. Não foram observadas diferenças na morfologia do esmalte entre os espécimes do grupo controle (sem clareamento) e dos grupos tratados com os diferentes agentes clareadores.

Hegedüs et al. (1999) avaliaram o efeito de dois agentes clareadores contendo peróxido de carbamida a 10% (Opalescence e Nite White) e uma solução de peróxido de hidrogênio a 30% sobre a superfície do esmalte utilizando o microscópio de força atômica. Quinze incisivos humanos hígidos foram distribuídos em três grupos experimentais de acordo com os agentes clareadores utilizados. Os grupos I, II e III foram tratados com Opalescence, Nite White e solução de peróxido de hidrogênio a 30%, respectivamente. A superfície vestibular de cada dente foi analisada antes e após o clareamento pelo microscópio de força atômica. Os espécimes dos grupos I e II receberam 7 aplicações do agente clareador com duração de 4 horas cada, totalizando 28 horas de tratamento clareador. Os espécimes do grupo III ficaram imersos durante 7 períodos de 4 horas na solução de peróxido de hidrogênio a 30%, sendo esta solução trocada a cada tratamento. Todos os agentes clareadores promoveram alterações na superfície do esmalte. A solução de peróxido de hidrogênio a 30% promoveu ranhuras e depressões mais profundas na superfície do esmalte do que os demais agentes clareadores. Concluiu-se que os agentes clareadores são capazes de causar alterações morfológicas não somente na superfície do esmalte, mas também no seu interior. Estas alterações ocorrem devido ao baixo peso molecular do peróxido de hidrogênio que pode penetrar no esmalte afetando a fase orgânica do mesmo. Os autores sugeriram que

outros estudos deveriam ser realizados para avaliar a reversibilidade deste aspecto.

Spalding et al. (2003) avaliaram em microscópio eletrônico de varredura, a morfologia superficial do esmalte após o uso do peróxido de hidrogênio a 35% associado ou não ao peróxido de carbamida a 10% e o efeito da saliva sobre o esmalte submetido ao tratamento clareador. Seis pré-molares erupcionados e seis terceiros molares não erupcionados foram seccionados no sentido vestibulo-lingual e méso-distal obtendo-se quatro fragmentos de cada coroa. Três fragmentos de cada dente receberam tratamento clareador seguindo os protocolos 1, 2 e 3, e o quarto fragmento de cada grupo foi usado como controle. No protocolo experimental 1, os espécimes foram tratados com peróxido de hidrogênio a 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) durante 20 minutos. No protocolo experimental 2, os espécimes foram tratados com peróxido de hidrogênio a 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) por 20 minutos e depois imersos em saliva por uma semana. No protocolo experimental 3, os espécimes foram tratados uma vez com peróxido de hidrogênio a 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) e depois com peróxido de carbamida por uma semana (12 horas com peróxido de carbamida alternando com 12 horas em saliva). A análise em microscopia eletrônica de varredura revelou que houve variação na morfologia superficial do esmalte de acordo com os diferentes protocolos utilizados. Os espécimes do grupo controle mostraram que o padrão da superfície do esmalte é diferente em dentes erupcionados e não erupcionados. O peróxido de hidrogênio a 35% promoveu aumento na rugosidade superficial dos espécimes tratados de acordo com o protocolo 1. A morfologia padrão dos espécimes tratados com o protocolo 2 foi marcada pela presença de partículas e glóbulos esféricos incorporados na estrutura mineralizada do esmalte. Uma superfície lisa e brilhante foi observada nos espécimes tratados pelo protocolo 3. Apesar das mudanças observadas na superfície do

esmalte após o clareamento e considerando as características morfológicas da superfície dentária, o clareamento, como foi descrito no estudo, pode ser considerado um protocolo seguro ao esmalte.

Yurdukoru et al. (2003) realizaram um estudo *in vivo* para avaliar os efeitos da ativação por luz do agente clareador Opalescence Xtra (peróxido de hidrogênio a 35%) sobre a superfície do esmalte de dentes humanos. A superfície vestibular de nove incisivos superiores pertencentes a diferentes pacientes foi dividida em quatro quadrantes, tratados com diferentes procedimentos: Quadrante 1 – aplicação de Opalescence Xtra por 5 minutos e ácido fosfórico a 37% por 30 segundos durante 3 semanas; Quadrante 2 – aplicação do Opalescence Xtra por 5 minutos durante 3 semanas; Quadrante 3 – sem aplicação de Opalescence Xtra (controle); Quadrante 4 – aplicação de ácido fosfórico a 37% por 30 segundos durante 3 semanas. Os dentes foram extraídos e os espécimes analisados em microscópio eletrônico de varredura. Não houve diferença na morfologia superficial do esmalte clareado e do grupo controle. Os dentes tratados somente com ácido fosfórico a 37% ou com ácido fosfórico associado ao agente clareador demonstraram morfologias diferentes na superfície do esmalte. Os autores concluíram que a exposição do esmalte ao peróxido de hidrogênio a 35% não foi capaz de danificar a superfície deste tecido dentário. Entretanto, mais estudos devem ser realizados com o intuito de garantir uma aplicação segura do agente clareador sobre a superfície do esmalte por tempos mais prolongados.

Kawamoto e Tsujimoto (2004) avaliaram os mecanismos pelos quais o peróxido de hidrogênio clareia os dentes e suas possíveis conseqüências aos tecidos duros dentários. Foram utilizados quatro espécimes na forma de blocos obtidos de canais radiculares de dentes humanos. A quantidade de cálcio dissolvido dos blocos que ficaram imersos em água destilada ou em peróxido de hidrogênio foi mensurada pelo

espectrofotômetro de emissão de plasma atômico. Os efeitos do peróxido de hidrogênio sobre o componente orgânico da dentina foram avaliados por um raio-X de difração. Verificou-se que a quantidade de cálcio decresceu quanto maior a concentração de peróxido de hidrogênio e o tempo de imersão neste produto. Concluiu-se que a alta concentração do peróxido associada à aplicação por um tempo prolongado foi prejudicial ao componente orgânico da dentina, permitindo a dissolução de quantidades significantes de cálcio.

Chng et al. (2005) avaliaram o efeito do peróxido de hidrogênio a 30% sobre as alterações superficiais e a dureza da dentina intertubular. Cinco pré-molares humanos extraídos foram seccionados e polidos para obtenção de dois espécimes de dentina de cada dente. Os espécimes foram distribuídos em dois grupos: grupo 1 (controle) – conservação em solução salina por 24 horas; grupo 2 - aplicação de peróxido de hidrogênio a 30% por 24 horas. A morfologia superficial e a dureza da dentina intertubular foram determinadas antes e após os tratamentos através de imagens e do teste de nanoindentação pelo microscópio de força atômica. Não houve alteração na dureza da dentina intertubular para o grupo controle. O clareamento com peróxido de hidrogênio a 30% por 24 horas causou recessão da superfície da dentina intertubular e significativa diminuição de sua dureza. Os autores atribuíram estes efeitos do peróxido de hidrogênio a sua forte ação antioxidante e baixo pH. A dentina peritubular por ser hipermineralizada apresentou-se mais resistente ao peróxido de hidrogênio do que a dentina intertubular.

Duschner et al. (2006) e Götz et al. (2007) analisaram in vitro os efeitos de tiras de peróxido de hidrogênio a 6, 6,5, 13 e 16% sobre a composição química, a dureza e a morfologia superficial do esmalte e da dentina humanos. O peróxido de hidrogênio nas diferentes concentrações avaliadas não promoveu nenhuma alteração nos tecidos dentais. Os autores concluíram que o clareamento com tiras de peróxido de hidrogênio é um



procedimento seguro e não causa nenhum dano evidente ao esmalte e à dentina.

Lee et al. (2006) analisaram a perda mineral de esmalte bovino quando submetidos a uma solução de peróxido de hidrogênio a 30%. Fragmentos de dentes bovinos foram imersos em solução de peróxido de hidrogênio a 30% durante 120 horas. As concentrações dos elementos do agente clareador foram mensuradas pelo espectrômetro de plasma atômico e cromatógrafo iônico. A composição mineral dos dentes foi analisada com um microanalisador de elétrons. O conteúdo mineral do esmalte sem clareamento foi maior que o do esmalte clareado. Os autores observaram uma perda de cálcio no esmalte clareado similar à perda provocada por refrigerantes e sucos por alguns minutos. Desta forma, o processo de clareamento não foi considerado um fator agressivo ao esmalte dental.

White et al. (2007) avaliaram os efeitos do peróxido de hidrogênio sobre a microdureza e a morfologia superficial da dentina radicular humana. Antes do tratamento clareador, metade dos espécimes foi condicionada com EDTA para remoção da smear layer e a outra metade foi mantida intacta. O grupo controle não recebeu nenhum tratamento clareador. Os grupos experimentais foram clareados com peróxido de hidrogênio a 5,3 e 6,5%. A microdureza da dentina com ou sem condicionamento ácido manteve-se inalterada após o clareamento. O condicionamento e o clareamento não alteraram o diâmetro dos túbulos dentinários. Os autores concluíram que o clareamento com peróxido de hidrogênio não produziu reações de solubilização na superfície dentinária e que a smear layer manteve-se intacta após o clareamento.

Chen et al. (2008) avaliaram os efeitos da associação do flúor com o tratamento clareador sobre o esmalte bovino. Todos espécimes, com exceção do grupo controle, foram clareados com peróxido de carbamida a 10% contendo ou não flúor, por 8 horas durante 14 dias. Após o

clareamento, alguns espécimes receberam aplicação tópica de fluoreto de sódio em diferentes concentrações. A morfologia do esmalte foi avaliada imediatamente após o fim do tratamento clareador. A dureza foi verificada após 7 e 14 dias de clareamento e após 21 e 28 dias do fim do tratamento. Os autores concluíram que os agentes clareadores fluoretados causaram menor desmineralização do esmalte e alteração na microdureza. A adição de flúor não afetou o efeito clareador.

O efeito dos peróxidos de hidrogênio a 35% e de carbamida a 37% sobre a morfologia da dentina bovina foi verificado por Carrasco-Guerisoli et al. (2009). O grupo controle foi formado por espécimes não clareados e por espécimes clareados com uma mistura de perborato de sódio e peróxido de hidrogênio a 10%. Os autores constataram que agentes clareadores com baixo pH provocaram maior alteração na morfologia da dentina devido a sua maior ação oxidante. O uso de produtos alcalinos com baixo tempo de aplicação pode reduzir as alterações morfológicas em dentina.

Através da microscopia de força atômica, Forner et al. (2009), avaliaram os efeitos dos peróxidos de carbamida a 30% e de hidrogênio a 35% sobre a dentina a nível ultraestrutural. Cem endentações foram feitas na dentina peritubular e intertubular. A dureza e a força de adesão à dentina foram reduzidas após o clareamento.

Sasaki et al. (2009) verificaram o efeito dos peróxidos de carbamida a 10% e de hidrogênio a 7,5% sobre a dureza e morfologia do esmalte. Os espécimes foram clareados por 1 hora durante 21 dias. O grupo controle foi formado pelo esmalte não clareado e mantido em saliva artificial. A dureza foi avaliada em 3 diferentes períodos: antes do clareamento, imediatamente após o clareamento e 14 dias após o fim do clareamento. O esmalte não sofreu nenhuma alteração em sua dureza durante o

clareamento. Entretanto, alterações na morfologia do esmalte e um aumento de sua dureza foram observados após 14 dias do fim do tratamento.

Ushigome et al. (2009) investigaram o efeito de agentes clareadores sobre a morfologia e propriedades mecânicas do esmalte bovino. Peróxidos de hidrogênio e de carbamida a 10 ou 30% foram aplicados ao esmalte por 30 ou 180 minutos. A dureza do esmalte foi diminuída a 2  $\mu\text{m}$  da superfície e sua morfologia alterada a 5  $\mu\text{m}$  após o clareamento com peróxido de hidrogênio. As alterações no esmalte limitaram-se a uma área menor que 50  $\mu\text{m}$  abaixo da superfície, independente da concentração do peróxido e tempo de aplicação.

A alteração na morfologia do esmalte bovino após o clareamento foi observada por Yang et al. (2009). O esmalte polido foi clareado com peróxido de hidrogênio a 10, 20 e 30%. Sobre o esmalte condicionado foram feitas aplicações de peróxido de hidrogênio nas concentrações de 0,5, 1, 3, 5, 10, and 15%. Os agentes clareadores causaram porosidade no esmalte e ruptura de suas estruturas, principalmente no esmalte condicionado. O peróxido de hidrogênio com concentração a partir de 1% já foi capaz de alterar a morfologia do esmalte condicionado. Estas alterações foram ainda mais evidentes com o uso do agente clareador a 15%.

Berger et al. (2010) avaliaram a ação do peróxido de hidrogênio a 35% sobre a morfologia superficial e perda de mineral do esmalte. O agente clareador foi aplicado ao esmalte por 3 vezes de 10 minutos cada em uma única sessão. A dureza do esmalte foi reduzida e sua morfologia alterada após o clareamento. O esmalte clareado apresentou perda de mineral até 40  $\mu\text{m}$  da superfície, com áreas de desmineralização no esmalte subsuperficial.

Ferreira et al. (2010) avaliaram qualitativamente a morfologia superficial do esmalte clareado com peróxido de hidrogênio a 35% seguido de aplicação de flúor acidulado ou neutro. Os espécimes receberam 3 aplicações do agente clareador 1 vez por semana durante 21 dias e foram polidos ao final de cada sessão. O peróxido de hidrogênio alterou a morfologia do esmalte, produzindo porosidades, depressões e irregularidades em diferentes graus. Estas alterações foram ainda maiores após a aplicação do flúor acidulado.

Souza et al. (2010) investigaram as alterações no esmalte bovino causadas pelo clareamento excessivo. Uma, três e cinco sessões de clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% foram realizadas. Os autores verificaram que sessões consecutivas de clareamento, em um curto período de tempo, podem causar alterações na morfologia e na composição do esmalte. A quantidade de cálcio do esmalte foi reduzida quando o clareamento foi feito por mais de uma sessão.

### **2.3 Efeitos de agentes clareadores sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina**

Titley et al. (1988) compararam a força de adesão de duas resinas compostas ao esmalte bovino com ou sem clareamento. As superfícies vestibulares de incisivos bovinos foram submetidas a quatro diferentes tratamentos: 1) imersão em peróxido de hidrogênio a 35% por 60 minutos e condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 60 segundos; 2) imersão em solução salina por 60 minutos e condicionamento ácido; 3) condicionamento ácido e imersão em peróxido de hidrogênio; 4) condicionamento ácido e imersão em solução salina. Blocos das resinas

compostas Silux Microfill Restorative e Valax Small Particle Restorative foram aderidos aos espécimes e submetidos aos testes de microtração e cisalhamento após um e sete dias em água destilada. As áreas fraturadas foram observadas em microscópio eletrônico de varredura. O clareamento com peróxido de hidrogênio reduziu a força de adesão das resinas compostas ao esmalte bovino. A queda na adesão ocorreu principalmente na interface adesiva. Diferenças menos significantes na força de adesão ocorreram no grupo controle com relação ao tipo de resina, tempo de armazenamento e ordem de aplicação do condicionamento ácido.

Titely et al. (1991) estudaram o efeito do agente clareador sobre a capacidade de penetração da resina adesiva ao esmalte bovino. Os espécimes foram imersos em solução salina (grupo controle) ou em peróxido de hidrogênio a 35% por 5 ou 30 minutos, antes e após o condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 60 segundos (grupos experimentais). Cilindros de resina composta (Valux Small Particle Restorative, 3M ESPE) foram confeccionados sobre todos os espécimes e submetidos após 24 horas ao teste de tração. Após o ensaio mecânico dezesseis espécimes (8 do grupo controle e 8 dos grupos experimentais) foram usados para análise dos tags na interface resina/esmalte pelo microscópio eletrônico de varredura. Nos espécimes do grupo controle, os tags se apresentaram bem definidos e uniformemente distribuídos. Nos espécimes dos grupos experimentais, grandes áreas de esmalte apresentaram-se sem resina e quando presentes, os tags estavam fragmentados, pobremente definidos e com pouca profundidade. Os autores sugeriram a existência de uma interação entre a resina e o peróxido de hidrogênio residual na superfície do esmalte, o que provocaria a inibição da polimerização da resina composta e o aumento da porosidade desta devido à presença de oxigênio.

Dishiman et al. (1994) avaliaram os efeitos do peróxido de hidrogênio a 25% sobre a adesão ao esmalte dental. Blocos de restaurações

de resina composta foram aderidos ao esmalte humano em diferentes intervalos de tempo: imediatamente, 1 dia, 1 semana e 1 mês após o clareamento. Um grupo controle foi formado por espécimes que não foram submetidos ao clareamento. A força de adesão ao esmalte e o número de tags na interface adesiva foram reduzidos imediatamente após o clareamento. A resistência adesiva retornou aos valores normais após 1 dia. A queda na adesão pode ser explicada pela inibição da polimerização adesiva pelo peróxido de hidrogênio.

Spyrides et al. (2000), avaliaram o efeito de três agentes clareadores sobre a força de adesão à dentina. Cento e vinte incisivos bovinos foram distribuídos em quatro grupos: 1) sem clareamento (controle); 2) clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% por 30 minutos; 3) clareamento com peróxido de carbamida a 35% por 30 minutos; 4) clareamento com peróxido de carbamida por 6 horas. Restaurações de resina composta foram aderidas imediatamente e uma semana após o clareamento. A força de adesão à dentina foi reduzida em aproximadamente 75% imediatamente após o clareamento. A resistência adesiva dos espécimes clareados com peróxido de carbamida e de hidrogênio a 35% aumentou após uma semana de conservação em saliva artificial.

Elkhatib et al. (2003) compararam o pH e a força de adesão à dentina com ou sem clareamento. Discos de dentina de dentes anteriores humanos foram clareados com uma mistura de peróxido de hidrogênio a 30% e perborato de sódio por uma semana e lavados com água por 5, 15 ou 30 segundos. Restaurações de resina composta foram aderidas à dentina com adesivo autocondicionante após 24 horas ou 1 semana em saliva artificial. O clareamento com peróxido de hidrogênio reduziu a força de adesão à dentina e aumentou o seu pH. A resistência adesiva e o pH da dentina foram restabelecidos após uma semana em saliva artificial.

Teixeira et al. (2004) avaliaram a influência do tempo e do clareamento não-vital sobre a força de adesão à dentina bovina. Blocos de resina composta foram aderidos à dentina após diferentes tratamentos: perborato de sódio e peróxido de hidrogênio a 30%; perborato de sódio e água destilada; peróxido de carbamida a 37%; água destilada (controle). Os espécimes foram mantidos em saliva artificial por 0, 7, 14 e 21 dias após o clareamento. Nenhuma interação foi observada entre o tempo e os agentes clareadores utilizados. A força de adesão à dentina foi afetada com a associação do perborato de sódio ao peróxido de hidrogênio ou água destilada, independente do tempo.

Arcari et al. (2007) analisaram a resistência adesiva de uma resina nanoparticulada à dentina humana após o clareamento não-vital, em diferentes intervalos de tempo. Trinta e seis pré-molares humanos superiores foram submetidos ao clareamento com perborato de sódio e peróxido de hidrogênio a 35%; peróxido de carbamida a 37%; peróxido de hidrogênio a 35%; sem clareamento (controle). Restaurações de resina composta foram aderidas à dentina imediatamente, 7 dias e 14 dias após o clareamento. A resistência adesiva não foi afetada pelo agente clareador e nem pelo tempo. Concluiu-se que restaurações adesivas podem ser feitas imediatamente após o clareamento não-vital.

Amaral et al. (2008) verificaram *in vitro* os efeitos do clareamento sobre a morfologia e a adesão ao esmalte e à dentina bovinos. Diferentes agentes clareadores foram utilizados separados e associados entre si: perborato de sódio, peróxido de hidrogênio a 37% e peróxido de carbamida a 35%. Uma semana após o clareamento, restaurações de resina composta foram confeccionadas e submetidas ao teste de microtração e à análise no microscópio eletrônico de varredura. A força de adesão ao esmalte não foi afetada por nenhum agente clareador. Entretanto, a resistência adesiva à dentina foi reduzida após a aplicação de todos os

agentes clareadores, com exceção do peróxido de hidrogênio a 35%. O perborato de sódio promoveu a maior redução na adesão à dentina. Além disso, o clareamento dental promoveu a abertura dos túbulos dentinários.

Barbosa et al. (2008) avaliaram a influência do tempo sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina após o clareamento. O grupo controle foi formado por superfícies não clareadas e mantidas em saliva artificial por 14 dias. As superfícies de esmalte e dentina clareadas foram restauradas com resina composta em diferentes intervalos de tempo: imediatamente, 7 dias e 14 dias após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%. Após estes períodos, todos os espécimes foram submetidos ao teste de microtração. A força de adesão após o clareamento foi afetada pelo tempo e pelos substratos analisados. A resistência adesiva ao esmalte e à dentina clareados foi reduzida após 7 e 14 dias, respectivamente. Concluiu-se que os procedimentos adesivos em esmalte devem ser feitos 7 dias após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% e na dentina somente após 14 dias.

Unlu et al. (2008) avaliaram o efeito do tempo sobre a resistência adesiva de resina composta ao esmalte após o clareamento com peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio a 35%. As superfícies vestibulares de incisivos inferiores humanos foram restauradas após diferentes intervalos de tempo: imediatamente, 24 horas, 1 semana ou 2 semanas após aplicação dos dois agentes clareadores. Um grupo controle foi formado por espécimes sem clareamento. Todos os grupos foram submetidos ao teste de cisalhamento. A força de adesão ao esmalte foi reduzida imediatamente após o clareamento. Para o esmalte clareado com peróxido de carbamida, 24 horas foram suficientes para o restabelecimento da adesão reduzida anteriormente. Para o peróxido de hidrogênio, 1 semana foi necessária para que a força de adesão ao esmalte fosse revertida. Os autores concluíram que os agentes clareadores reduziram a força de adesão



ao esmalte e que um período de espera de 24 horas e 1 semana é necessário para restabelecimento da resistência adesiva quando os peróxidos de carbamida e de hidrogênio são utilizados, respectivamente.

Dietrich et al. (2010) verificaram a ação do peróxido de hidrogênio a 10 e 38% sobre a resistência adesiva do esmalte bovino. O procedimento adesivo foi realizado imediatamente, 24 horas e 7 dias após o clareamento usando um adesivo auto-condicionante. A força de adesão foi reduzida imediatamente e 24 horas após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% e restabelecida após 7 dias. Entretanto, o clareamento com peróxido de hidrogênio a 10% não afetou a resistência adesiva do esmalte.

O efeito da aplicação de agentes clareadores no esmalte sobre a força de adesão à dentina em diferentes profundidades foi observada por Lima et al. (2010). O procedimento restaurador foi feito 24 horas após o clareamento com peróxido de carbamida a 16% e peróxido de hidrogênio a 35% em dentina com espessuras de 0,5 mm, 1 mm e 1,5 mm. A força de adesão não foi afetada pelo agente clareador mas foi dependente da profundidade do substrato. A menor resistência adesiva à dentina foi obtida em espessura de 1,5 mm.

## **2.4 Efeitos de agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina após o clareamento**

Muitos estudos têm demonstrado uma redução significativa na força de adesão de restaurações de resina composta ao esmalte e à dentina quando o procedimento adesivo é feito imediatamente após o clareamento. Além disso, um certo período de espera é necessário para

realização da restauração para que a força de adesão após o clareamento seja restabelecida. Dessa forma, alguns autores começaram a avaliar o efeito de diferentes agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte e a dentina após o clareamento.

Lai et al. (2001) examinaram os efeitos de agentes oxidantes e antioxidantes sobre a força de adesão à dentina. As superfícies dentinárias de terceiros molares humanos foram tratadas com dois agentes oxidantes (peróxido de hidrogênio ou hipoclorito de sódio) antes ou após o condicionamento ácido, com ou sem aplicação de um agente antioxidante (ascorbato de sódio). Após os tratamentos, os espécimes foram aderidos com Single Bond ou Excite, restaurados com resina composta e submetidos ao teste de microtração e à análise em microscópio eletrônico de transmissão. O peróxido de hidrogênio reduziu a força de adesão de ambos os sistemas adesivos, enquanto que o hipoclorito de sódio diminuiu a adesão apenas do Single Bond e removeu parcialmente a matriz colágena desmineralizada. Os autores concluíram que a queda na força de adesão não pode ser atribuída à incompleta desproteinização, mas pode estar relacionada às alterações no potencial oxirredutor dos substratos aderidos. O ascorbato de sódio restabeleceu a força de adesão à dentina.

Lai et al. (2002) avaliaram se a força de adesão ao esmalte comprometida com o tratamento clareador poderia ser revertida com a aplicação de um agente antioxidante (ascorbato de sódio). Quinze terceiros molares humanos foram distribuídos em três grupos: GI (controle) – manutenção dos dentes em água destilada por 8 horas; GII – aplicação de peróxido de carbamida a 10% (NuproGold, Dentsply) por 8 horas; GIII – aplicação de peróxido de carbamida a 10% (NuproGold, Dentsply) por 8 horas seguido pela imersão em solução de ascorbato de sódio a 10% por 3 horas. Após a aplicação dos agentes clareador e antioxidante, os espécimes foram mantidos em água destilada por 10 minutos. Sobre todos os

espécimes foi feito o condicionamento com ácido fosfórico, aplicação dos sistemas adesivos Single Bond (3M ESPE) ou Prime Bond NT (Dentsply) e confecção de restauração de resina composta. Quatro espécimes de cada grupo foram preparados para o teste de microtração e um espécime para análise da nanoinfiltração pelo microscópio eletrônico de transmissão. A resistência adesiva de ambos os adesivos foi reduzida após o clareamento, mas revertida após o tratamento com ascorbato de sódio. As interfaces esmalte/resina nos espécimes clareados exibiram mais nanoinfiltração na forma de grãos de prata isolados e depósitos de prata em forma de bolhas. Os autores concluíram que a redução da resistência adesiva ao esmalte clareado é provavelmente causada pela liberação de oxigênio que afeta a polimerização dos componentes resinosos e que o potencial uso clínico de um gel de ascorbato de sódio para inibir o efeito oxidante do clareamento dental deveria ser avaliado.

Kaya e Türkün (2003) determinaram o efeito de agentes antioxidantes sobre a força de adesão de resinas compostas à dentina clareada. As superfícies vestibulares de noventa dentes humanos foram seccionadas e polidas para exposição da superfície dentinária. As superfícies foram submetidas a nove diferentes tratamentos: 1) clareamento com gel de peróxido de hidrogênio a 35%; 2) gel de peróxido de hidrogênio + ascorbato de sódio a 10% (agente antioxidante); 3) gel de peróxido de hidrogênio + butilhidroxianisol a 10% (agente antioxidante); 4) solução de peróxido de hidrogênio a 35%; 5) solução de peróxido de hidrogênio + ascorbato de sódio a 10%; 6) solução de peróxido de hidrogênio + butilhidroxianisol a 10%; 7) gel de peróxido de hidrogênio + imersão em saliva artificial por 7 dias; 8) solução de peróxido de hidrogênio + imersão em saliva artificial; 9) sem tratamento (controle). Restaurações de resina composta foram confeccionadas sobre os espécimes e submetidas ao cisalhamento. A força de adesão à dentina clareada foi significativamente menor em comparação

ao grupo controle. O ascorbato de sódio a 10% reverteu a força de adesão à dentina comprometida após o clareamento. A adesão à dentina com a aplicação do ascorbato de sódio foi semelhante à manutenção do dente em saliva artificial por sete dias.

Kum et al. (2004) investigaram os efeitos da remoção do peróxido residual sobre a força de adesão e tipos de falhas na interface adesiva após o clareamento. Caninos e pré-molares humanos foram clareados e submetidos a três diferentes tratamentos por 3 minutos: catalase, etanol a 70% e spray de água. Os grupos controles positivo e negativo foram compostos por esmalte com e sem clareamento, respectivamente. Os espécimes foram aderidos com resina composta, termociclados e submetidos ao teste de cisalhamento e ao microscópio eletrônico de varredura. O tratamento do esmalte com catalase e etanol aumentou a força de adesão após o clareamento. Entretanto, o etanol não foi capaz de restabelecer a adesão semelhante ao grupo controle negativo. Os autores observaram que o peróxido residual interfere na força de adesão ao esmalte por promover alterações na interface adesiva e na qualidade da resina.

Türkün e Kaya (2004) avaliaram o efeito do tratamento antioxidante sobre a força de adesão de resina composta ao esmalte bovino após o clareamento com peróxido de carbamida a 10, 16 e 22% por 8 horas durante sete dias. Cada grupo experimental foi dividido em três subgrupos. O grupo 1 foi formado por espécimes aderidos imediatamente após o clareamento. No grupo 2 os espécimes foram tratados com agente antioxidante ascorbato de sódio a 10% por 10 minutos e no grupo 3 foram imersos em saliva artificial por uma semana após o clareamento. O grupo controle não recebeu tratamento clareador e foi mantido em saliva artificial por uma semana antes do procedimento adesivo. Todos os espécimes foram aderidos com o sistema adesivo Clearfil SE Bond e com a resina composta Clearfil AP-X, submetidos à termociclagem e ao ensaio mecânico. As

superfícies fraturadas foram observadas em microscópio eletrônico de varredura. A adesão da resina composta ao esmalte imediatamente após o clareamento com peróxido de carbamida a 10, 16 e 22% foi menor em relação ao esmalte não clareado. Não houve diferença na força de adesão entre os grupos tratados com agente antioxidante, aderidos após uma semana e o grupo controle. Concluiu-se que o período de espera de uma semana foi suficiente para restabelecer a força de adesão da resina ao esmalte dental. O tratamento com ascorbato de sódio a 10% após o clareamento reverteu a força de adesão reduzida após o tratamento clareador e pode ser uma alternativa à espera de uma semana quando se necessita de um procedimento adesivo imediatamente após o clareamento.

Bulut et al. (2005) avaliaram o efeito de um agente antioxidante sobre a força de adesão de brackets metálicos aderidos com resina composta ao esmalte humano após o clareamento com peróxido de carbamida a 10%. Oitenta pré-molares humanos foram distribuídos em três grupos experimentais clareados com peróxido de carbamida a 10% por 8 horas durante 7 dias e um grupo controle (sem clareamento). Os espécimes do grupo 1 foram aderidos imediatamente após o clareamento. O grupo 2 foi conservado em saliva artificial por 7 dias após o clareamento; o grupo 3 recebeu aplicação do agente antioxidante ascorbato de sódio a 10% por 10 minutos, após o clareamento e imediatamente antes do procedimento adesivo. Os espécimes do grupo 4 (controle) não receberam tratamento clareador e foram imersos em saliva artificial por 7 dias antes da adesão. Os brackets foram aderidos aos espécimes através de uma resina composta quimicamente ativada. Todos os espécimes foram submetidos a 500 ciclos térmicos e ao teste de microtração. As superfícies fraturadas foram observadas em microscópio óptico. A adesão do bracket imediatamente após o clareamento foi menor do que no esmalte não clareado. Não houve diferença na força de adesão entre os grupos tratados com agente

antioxidante, aderidos após uma semana e o grupo controle. Os autores concluíram que a adesão imediatamente após o clareamento com peróxido de carbamida a 10% é reduzida. O período de espera de uma semana após o clareamento é suficiente para uma adesão efetiva. A aplicação do ascorbato de sódio a 10% restabeleceu a adesão semelhante à espera de uma semana. O tratamento com ascorbato de sódio é uma opção inovadora para fixação de brackets ortodônticos após o clareamento com peróxido de carbamida a 10%.

Kimyai e Valizadeh (2006) avaliaram o efeito do ascorbato de sódio em gel e solução sobre a força de adesão de resina composta ao esmalte clareado. As superfícies vestibulares de sessenta terceiros molares humanos foram clareadas com peróxido de carbamida a 10% seguida pela aplicação ou não de ascorbato de sódio na forma de gel ou solução nas concentrações de 10 e 20%. Os espécimes foram restaurados com resina composta e submetidos ao teste de cisalhamento. O ascorbato de sódio aumentou a força de adesão ao esmalte após o clareamento. Não houve diferença significativa entre o ascorbato de sódio em gel e em solução. Os mesmos autores em 2008, usaram metodologia similar para verificar o efeito do ascorbato de sódio sobre a adesão à dentina. Foi concluído que o ascorbato de sódio tanto em gel quanto em solução foi capaz de reverter a força de adesão à dentina clareada com peróxido de carbamida a 10%.

Nomoto et al. (2006) estudaram o efeito do ácido ascórbico sobre a resistência adesiva à dentina clareada. As superfícies dentinárias de incisivos bovinos foram tratadas por 30 minutos com peróxido de carbamida a 10%, peróxido de hidrogênio a 30% ou água destilada. Em seguida, foram submetidas à aplicação de ácido ascórbico a 10% por 0, 30, 90 e 180 minutos. Após o condicionamento com ácido cítrico e restauração com resina composta, os espécimes foram preparados para o teste de microtração e análise em microscópio eletrônico de varredura. O clareamento reduziu a

força de adesão à dentina e promoveu uma grande oxidação superficial. O ácido ascórbico aumentou a força de adesão proporcionalmente ao tempo de aplicação. Concluiu-se que o ácido ascórbico foi capaz de reverter a força de adesão à dentina após o clareamento.

Torres et al. (2006) avaliaram o efeito neutralizador de agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte clareado. As superfícies vestibulares de 80 incisivos bovinos foram distribuídas em seis grupos experimentais e dois grupos controles: negativo (sem clareamento) e positivo (clareamento, sem aplicação de agentes antioxidantes). Os grupos experimentais foram clareados com peróxido de hidrogênio a 35% por 30 minutos e submetidos a um dos seguintes agentes antioxidantes por 20 minutos: ascorbato de sódio a 10%, catalase, glutathione peroxidase, acetona, etanol e bicarbonato de sódio a 7%. Os espécimes foram restaurados com resina composta e preparados para o teste de cisalhamento. Todos os grupos apresentaram menor força de adesão do que o grupo controle negativo. Apenas a catalase foi capaz de aumentar a força de adesão ao esmalte após o clareamento, entretanto, nenhum agente antioxidante neutralizou completamente os efeitos deletérios do clareamento sobre a resistência adesiva.

Muraguchi et al. (2007), verificaram a ação do clareamento e do ácido ascórbico sobre a força de adesão à estrutura dental bovina. Todos os grupos, com exceção do controle, receberam aplicação do ácido ascórbico após o procedimento clareador. A força de adesão foi reduzida após o clareamento e restabelecida com o uso do ácido ascórbico. Dessa forma, os autores concluíram que o ácido ascórbico foi capaz de reverter a força de adesão reduzida após o clareamento.

Gökçe et al. (2008) avaliaram o efeito de um agente antioxidante sobre a resistência adesiva de um cimento resinoso ao esmalte clareado com peróxido de carbamida. As superfícies de esmalte de molares

humanos foram distribuídas em um grupo controle (sem clareamento) e três grupos experimentais clareados com peróxido de carbamida: 1) aderidos imediatamente após o clareamento; 2) aderidos após o tratamento com ascorbato de sódio a 10%; 3) aderidos após 1 semana em saliva artificial. Blocos de porcelana foram cimentados ao esmalte com cimento resinoso dual e submetidos à termociclagem, microscópio eletrônico de varredura e teste mecânico. A força de adesão ao esmalte foi reduzida imediatamente após o clareamento e revertida com a aplicação de ascorbato de sódio a 10%. Este agente antioxidante foi capaz de promover uma força de adesão ao esmalte clareado maior do que na ausência do clareamento.

Sasaki et al. (2009) avaliaram o efeito dos agentes antioxidantes ascorbato de sódio e alfa tocoferol a 10% sobre a força de adesão do esmalte e da dentina clareados com peróxido de carbamida a 10%. O agente clareador foi usado por 2 horas diariamente durante 14 dias. Imediatamente após o clareamento, os agentes antioxidantes em gel e solução foram aplicados sobre os substratos por 2 horas. A resistência adesiva à dentina não foi restabelecida com nenhum dos agentes antioxidantes testados. Apenas a aplicação da solução de alfa tocoferol a 10% por 2 horas foi capaz de reverter a adesão ao esmalte após o clareamento.

O efeito de diferentes concentrações (2,5%, 5% e 10%) do ascorbato de sódio em gel sobre a força de adesão ao esmalte clareado com peróxido de carbamida a 10% foi avaliado por Turkun et al. (2009). A força de adesão ao esmalte foi reduzida após o clareamento. Entretanto, devido a aplicação do gel de ascorbato de sódio a 10% a resistência adesiva do esmalte clareado foi maior do que o não clareado. A concentração de 10% do ascorbato de sódio foi a mais efetiva para restabelecer a adesão após o clareamento. Além disso, o ascorbato em gel pode ser usado em substituição à solução em procedimentos clínicos.



Comlekoglu et al. (2010) verificaram como a força de adesão de um cimento resinoso à dentina foi afetada pelo tratamento antioxidante e tempo de espera após o clareamento com peróxido de carbamida. Diferentes grupos experimentais foram formados: 1) clareamento + adesão imediata; 2) clareamento + ascorbato de sódio a 10% + adesão; 3) clareamento + adesão após 7 dias; 4) sem clareamento + adesão após 7 dias. A resistência adesiva à dentina foi reduzida após o clareamento com peróxido de carbamida. Entretanto, a adesão foi restabelecida pela aplicação do ascorbato de sódio previamente à cimentação ou pelo aguardo de 1 semana após o clareamento.

Kimyai et al. (2010) investigaram o efeito do ascorbato de sódio em gel ou solução sobre a força de adesão de brackets ao esmalte clareado com peróxido de carbamida. Os procedimentos adesivos foram feitos imediatamente após o clareamento ou após a aplicação do ascorbato de sódio por 10 minutos ou 3 horas. A resistência adesiva de brackets ortodônticos ao esmalte foi restabelecida com a aplicação de 3 horas da solução ou gel de ascorbato de sódio imediatamente após o clareamento com peróxido de carbamida.

Khoroushi et al. (2010) observaram se o clareamento não-vital e o uso de agente antioxidante afetaram a resistência a fratura da estrutura dental. Uma mistura de peróxido de hidrogênio a 9,5 e 38% foi aplicada a superfície vestibular de pré-molares superiores e na câmara pulpar. O ascorbato de sódio foi mantido no dente por 24 horas. Os autores concluíram que a força de adesão foi reduzida após o clareamento, porém revertida pelo uso do ascorbato de sódio.

Lima et al. (2010) avaliaram a influência do clareamento sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina subjacente e se um agente antioxidante é capaz de restabelecer a adesão após o tratamento clareador. Dois grupos controles (esmalte e dentina sem clareamento) e 12

experimentais foram formados de acordo com: agente clareador (peróxido de carbamida a 16% e peróxido de hidrogênio a 35%), intervalo de tempo entre o clareamento e a adesão (24 horas, 24 horas + ascorbato de sódio a 10% por 1 minuto, 14 dias) e o substrato (esmalte e dentina). O clareamento foi realizado apenas sobre a superfície do esmalte. A força de adesão ao esmalte foi reduzida após o clareamento e revertida com o uso do ascorbato de sódio por um curto período de tempo. A adesão à dentina subjacente não foi afetada pelo clareamento.

May et al. (2010) avaliaram o efeito do tempo de espera para cimentação de cerâmica à dentina sobre a força de adesão após o clareamento não-vital e aplicação de ascorbato de sódio a 10% por 10 minutos. A dentina foi clareada com peróxido de carbamida a 35% por 9 dias. Blocos de cerâmica feldspática foram cimentados após 1, 7 e 14 dias após a aplicação do agente clareador e/ou ascorbato de sódio. Os autores concluíram que a cimentação adesiva deve ser feita após 7 dias de clareamento não-vital e aplicação do agente antioxidante.

De acordo com Silva et al. (2010) a resistência adesiva do esmalte clareado com peróxido de carbamida a 10% foi revertida após aplicação do ascorbato de sódio a 3%. Além disso, o agente clareador e o ascorbato não afetaram a dureza superficial do esmalte.

Prasansuttiporn et al. (2011) avaliaram o efeito da aplicação de diferentes agentes antioxidantes sobre a adesão à dentina tratada com hipoclorito de sódio a 6% por 30s. O grupo controle foi formado por espécimes sem tratamento e os grupos experimentais por espécimes submetidos ao hipoclorito e/ou aplicação de ascorbato de sódio a 10%, 100 µM de ácido rosmarínico ou Accel por 5 ou 10 segundos. A força de adesão à dentina foi reduzida com o hipoclorito de sódio. O ascorbato de sódio não foi capaz de reverter a resistência adesiva. Entretanto, a aplicação do ácido

rosmarínico e Accel por um curto período de tempo (5 ou 10 segundos) restabeleceu a baixa força de adesão à dentina clareada.

### 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento clareador e de diferentes agentes antioxidantes sobre:

- a) a rugosidade superficial do esmalte e da dentina, utilizando o Microscópio de Força Atômica;
- b) a morfologia superficial do esmalte e da dentina, utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura;
- c) a força de adesão de restaurações, submetidas ou não ao envelhecimento artificial, ao esmalte e à dentina.

Três hipóteses nulas foram testadas:

- a) a rugosidade superficial do esmalte e da dentina não é afetada pelo uso do peróxido de hidrogênio a 38% e de diferentes agentes antioxidantes;
- b) as características morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina não são afetadas pelo uso do peróxido de hidrogênio a 38% e de diferentes agentes antioxidantes;
- c) a força de adesão de restaurações, submetidas ou não ao envelhecimento artificial, ao esmalte e à dentina não é afetada pelo uso do peróxido de hidrogênio a 38% e de diferentes agentes antioxidantes.

## **4 MATERIAL E MÉTODO**

Para a realização deste estudo foram selecionados 9 incisivos centrais inferiores e 68 terceiros molares humanos hígidos, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos, com aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP (Anexo A).

Os dentes foram raspados com cureta periodontal e limpos com pasta de pedra pomes e água, com auxílio de escova de Robinson montada em contra-ângulo. Em seguida, foram examinados em lupa estereoscópica (Zeiss: West Germany – mod. 475200/9901) com aumento de 10 vezes para detectar possíveis trincas ou alterações estruturais que pudessem causar interferências indesejáveis na condução desse trabalho. Os dentes selecionados foram armazenados em Cloramina T a 4°C até o momento de sua utilização, o que não excedeu o período de 6 meses (ISO 11405).

Este estudo foi subdividido em três metodologias de acordo com a análise realizada.

### **4.1 Avaliação do efeito do tratamento clareador e de agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial do esmalte e da dentina, através do Microscópio de Força Atômica**

#### 4.1.1 Preparo dos dentes

Para análise da rugosidade superficial do esmalte, nove incisivos centrais inferiores foram seccionados na junção amelo-cementária, com o intuito de remover a superfície radicular, e na borda incisal para obtenção de amostras de 6 mm de comprimento (Figura 1A). A região de cíngulo também foi seccionada para obtenção de uma amostra de 1,5 mm de espessura com a superfície vestibular a mais plana possível (Hegedüs et al., 1999) (Figura 1B).

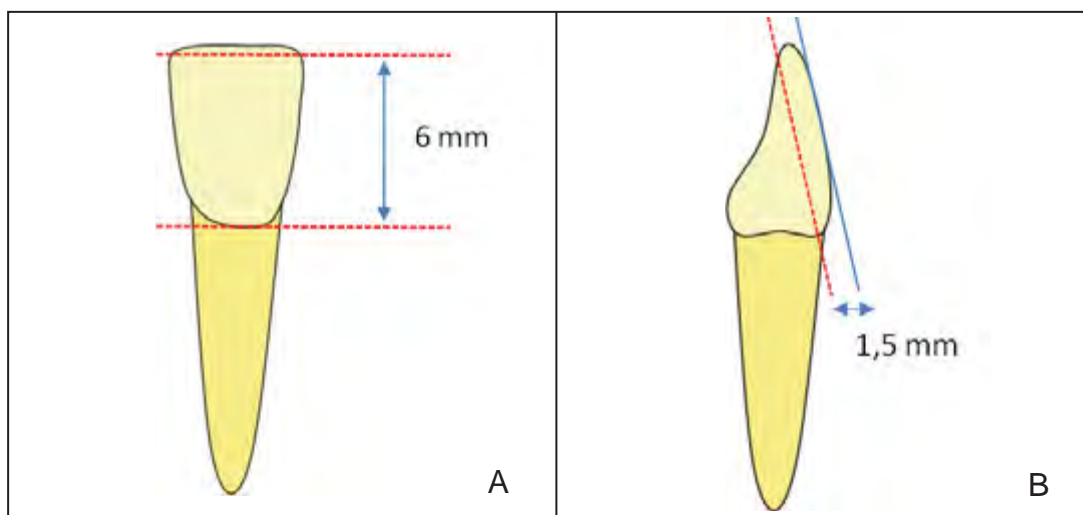


Figura 1 - Esquema demonstrando a secção de incisivo central inferior na junção amelo-cementária (A), na borda incisal (A) e na região de cíngulo (B).

Nove terceiros molares foram seccionados no terço oclusal (Hosoya et al., 2003), perpendicular ao longo eixo do dente, a 2,5 mm da junção amelo-cementária e no terço cervical a 0,5 mm da junção amelo-cementária, para obtenção de uma superfície dentinária plana de média profundidade (Goracci et al., 2004) (2 mm de espessura), utilizada para análise da rugosidade superficial da dentina (Figura 2). Todas as secções

foram realizadas em uma máquina de cortes de precisão (ISOMET 1000, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, EUA) com disco diamantado em baixa velocidade (525 rpm), sob refrigeração abundante.

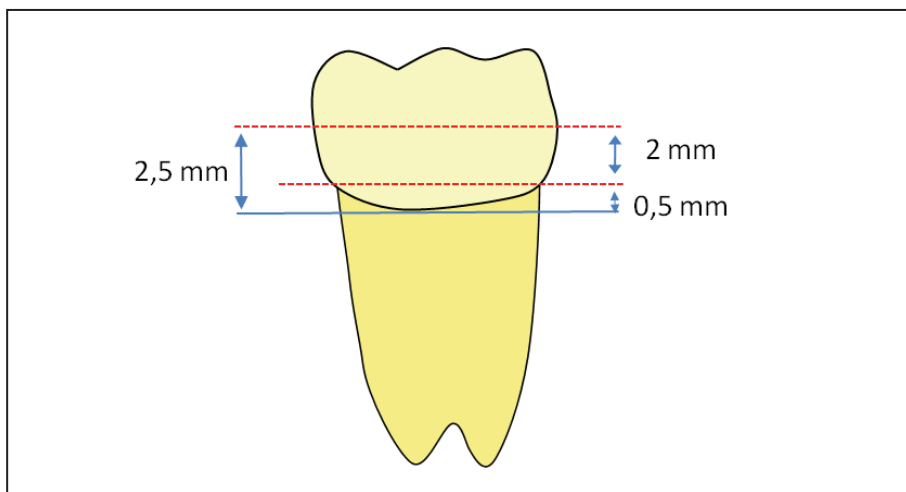


Figura 2 – Esquema demonstrando a secção de terceiro molar a 2,5mm da junção amelo-cementária e no terço cervical para obtenção de amostra de dentina.

As superfícies de dentina foram regularizadas com lixas de carbureto de silício com granulações 600, 800 e 1200, seguidas por disco de feltro e pasta diamantada (Buehler Ltda.) de 1,0  $\mu\text{m}$ , 0,3  $\mu\text{m}$  e 0,05  $\mu\text{m}$  por 1 minuto cada, montados em politriz (Ecomet 3000, Buehler Ltda.) sob refrigeração à água. Este procedimento foi necessário para remover as ranhuras deixadas pelo disco diamantado no momento da secção das amostras. Um microscópio óptico com aumento de 30 vezes foi utilizado para confirmar se houve remoção completa das ilhas de esmalte e regularização de toda a superfície dentinária (Hikita et al., 2007).

Em seguida, as superfícies de esmalte e dentina foram lavadas em água corrente por 1 minuto e secas com jatos de ar sem impurezas.

#### 4.1.2 Clareamento dental

As amostras de esmalte e dentina foram clareadas com o gel de peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost, Ultradent Products Inc., South Jordan, Utah, EUA, Lote B3T4V), pH 7,0 (Figura 3).



Figura 3 – Gel clareador de peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost, Ultradent Products Inc.).

O gel foi aplicado em uma espessura de aproximadamente 1 mm sobre a superfície das amostras e agitado a cada 5 minutos com um pincel microbrush, num total de 15 minutos. A aplicação do gel foi repetida por 4 vezes, sem fotoativação, seguindo as instruções do fabricante.

Finalizado o procedimento clareador, todas as amostras foram lavadas com jatos de água por 1 minuto (Hegedüs et al., 1999) e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 horas.

#### 4.1.3 Aplicação de agentes antioxidantes



Três agentes antioxidantes foram aplicados sobre as amostras de esmalte e dentina após o clareamento dental:

### **Ascorbato de sódio (ácido l-ascórbico sal sódico)**

O ascorbato de sódio é um agente antioxidante não enzimático e hidrossolúvel, capaz de eliminar os radicais livres no sistema biológico e prevenir o efeito ácido (Bulut et al., 2006; Rose, Bode, 1993). O ácido l-ascórbico sal sódico (Acros Organics, Fair Lawn, NJ, EUA, Lote A0257429,) na forma cristalina, com peso molecular de 198,11 foi usado para produção de uma solução de ascorbato de sódio a 10%. Para isso, 10g do ácido l-ascórbico sal sódico foram adicionados a 100 ml de água destilada, obtendo-se uma solução amarelo claro com pH 7,6, mensurado por um medidor de pH. A fórmula molecular deste sal é representada a seguir:

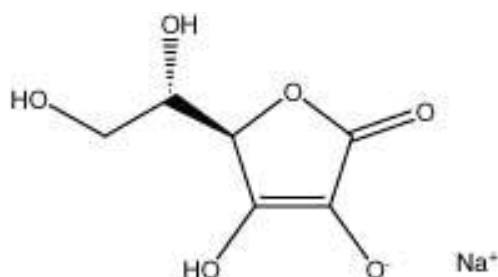


Figura 4 – Fórmula molecular do Ácido L-Ascórbico sal sódico (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>)

### **Catalase**

A catalase de *Aspergillus Niger* (MP Biomedicals LLC, Solon, OH, EUA, Lote 1357K) é um agente antioxidante enzimático presente nos peroxissomos que converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio através da reação:  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Uma solução deste agente antioxidante foi preparada baseada na proporção de 34 mg de catalase para 1 ml de água destilada preconizada por Torres et al. em 2006. Usando uma regra de três foi possível diluir 210 mg de catalase em 6 ml de água destilada, obtendo-se a solução antioxidante desejada. Esta solução foi caracterizada por uma cor marrom e pH 7,03.

### **Peroxidase**

A peroxidase tipo VI de Horseradish (MP Biomedicals LLC, Lote 2175K) é um agente antioxidante enzimático extraído das raízes da planta *Amaracia rusticana*, usado na eliminação de oxigênio reativo.

Uma solução deste agente antioxidante foi preparada baseada na proporção de 10mg de peroxidase para 1 ml de água destilada preconizada por Becerra em 2004. Usando uma regra de três foi possível diluir 35 mg de peroxidase em 3,5 ml de água destilada, obtendo-se a solução antioxidante desejada. Esta solução foi caracterizada por uma coloração esverdeada e pH 6,67.

Todos as amostras de esmalte e dentina foram imersas nas soluções dos agentes antioxidantes por um período de 10 minutos, com agitação usando um pincel microbrush (Bulut et al., 2006; Kaya, Türkün, 2003; Türkün, Kaya, 2004) a cada 3 minutos (Figura 5). Em seguida, as amostras foram lavadas por 30 segundos e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 horas.



Figura 5 – Esquema em 3D demonstrando a imersão das amostras de esmalte e dentina nas soluções dos agentes antioxidantes: ascorbato de sódio (solução amarela), catalase (solução marrom) e peroxidase (solução verde) e agitação com pincel microbrush.

#### 4.1.4 Avaliação da rugosidade superficial

Antes da análise da rugosidade superficial todas as amostras de esmalte e dentina foram colocadas em Beckers de vidro separadamente e levadas ao ultra-som contendo água deionizada, por 30 minutos, com o objetivo de remover as impurezas depositadas sobre a superfície.

A rugosidade média superficial foi avaliada através de microscopia de força atômica (MFA, Dimension 3100 Nanoscope IIIa, Veeco Digital Instruments, Plainview, NY, EUA), no modo contato em ar, com temperatura e umidade controladas, presente no Department of Materials Science and Engineering, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, EUA (Figura 6).

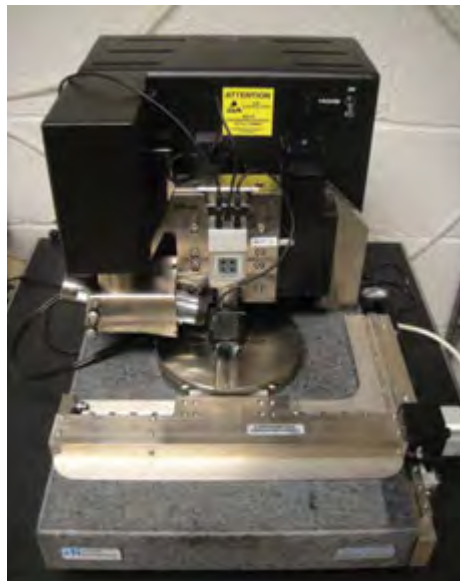


Figura 6 - Microscópio de força atômica Dimension 3100 (Nanoscope IIIa, Veeco Digital Instruments) usado para análise da rugosidade superficial do esmalte e da dentina.

A varredura das superfícies de esmalte e dentina foi feita utilizando-se uma ponta piramidal de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  com frequência de 1 Hz e mensuração em nanômetros (nm) (Wilder Jr et al., 2000).

Para dar início às leituras de rugosidade, as amostras de esmalte e dentina foram posicionadas sobre o scanner piezelétrico no MFA e em seu centro três áreas foram selecionadas, aleatoriamente.

As imagens de  $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$  obtidas de cada área selecionada<sup>17</sup> com resolução de  $512 \times 512$  pixels, foram usadas para o cálculo da rugosidade média ( $R_a$ ) usando a seguinte equação:

$$R_a = \frac{1}{L_x L_y} \int_0^{L_y} \int_0^{L_x} |f(x,y)| dx dy,$$

onde  $f(x,y)$  é a superfície relativa ao plano central e  $L_x$  e  $L_y$  são as dimensões da superfície (Silikas et al., 1999). A análise de  $R_a$  foi feita pelo Nanoscope IIIa Software version 4.22 R2 (Digital Instruments).

A rugosidade média de cada superfície de esmalte e dentina foi representada pela média de rugosidade das três áreas selecionadas.

A análise da rugosidade superficial foi feita em três períodos distintos (n=9): 1) Antes do clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%; 2) Após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%; 3) Após a aplicação dos agentes antioxidantes.

Cada amostra foi usada como seu próprio controle, com o intuito de reduzir as variações morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina sobre os resultados do experimento (Hegedüs et al., 1999).

#### 4.1.5 Análise estatística

A estatística descritiva dos dados foi apresentada com os valores de tendência central (média) e de dispersão (desvio padrão, mínimo e máximo). A influência das variáveis independentes (com ou sem clareamento e agentes antioxidantes usados: ascorbato de sódio, catalase e peroxidase) sobre a variável dependente (rugosidade superficial do esmalte e da dentina) foi avaliada.

A significância estatística das diferenças dos valores médios entre os grupos foi testada mediante à análise de variância (ANOVA, 1 fator), numa abordagem paramétrica e pelo teste de comparação múltipla de Tukey, a 5% de significância.

Os dados tiveram representação gráfica e foram submetidos à análise estatística inferencial com os programas computacionais STATISTICA (1995, version 5.0, StatSoft, Inc.) e STATISTIX (2000, version 7.0, Analytical Software Inc.), respectivamente.

Uma análise qualitativa foi realizada sobre as imagens do esmalte e da dentina em três dimensões obtidas pela MFA.

## 4.2 Avaliação do efeito do tratamento clareador e de agentes antioxidantes sobre a morfologia do esmalte e da dentina

### 4.2.1 Preparo dos dentes

Oito terceiros molares foram seccionados na junção amelo-cementária e no sentido vestibulo-lingual (Figura 7A), com o intuito de remover a superfície radicular e obter duas hemi-seções: uma mesial e uma distal, que foram utilizadas para análise da morfologia do esmalte. Quinze amostras foram utilizadas com dimensões pré-definidas (Perdigão et al., 2005) de 8,0 X 4,0 mm<sup>2</sup> (Figura 7B).

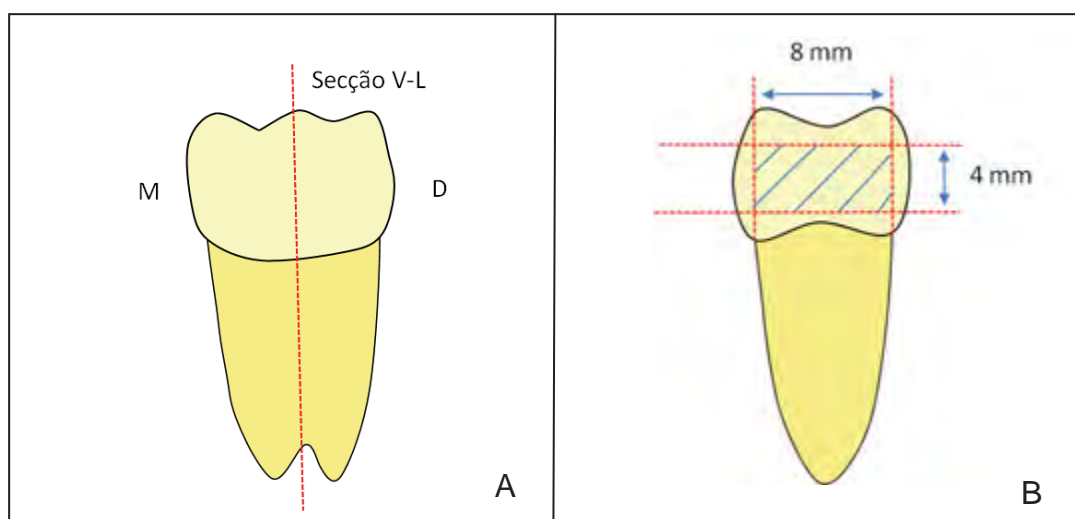


Figura 7 – A) Esquema demonstrando a secção V-L de um terceiro molar sob uma visão vestibular, B) Visão lateral de um terceiro molar seccionado na junção amelo-cementária, no terço oclusal, na mesial e na distal para obtenção de amostra de esmalte de 8,0 X 4,0 mm<sup>2</sup>.

Quinze terceiros molares foram seccionados nos terços oclusal e cervical, perpendicular ao longo eixo do dente, para obtenção de uma superfície dentinária plana de média profundidade (Goracci et al., 2004) (Figura 2) utilizada para análise morfológica e estrutural da dentina. As secções foram realizadas em uma máquina de cortes de precisão (ISOMET 1000, Buehler Ltda.) com disco diamantado em baixa velocidade (525 rpm), sob refrigeração abundante.

Todas as superfícies de dentina foram regularizadas com lixas de carbureto de silício com granulações 600, 800 e 1200, seguidas por disco de feltro e pasta diamantada (Buehler Ltda.) de 1,0  $\mu\text{m}$ , 0,3  $\mu\text{m}$  e 0,05  $\mu\text{m}$  por 1 minuto cada, montados em politriz (Ecomet 3000, Buehler Ltda.) sob refrigeração à água. Este procedimento foi necessário para remover as ranhuras deixadas pelo disco diamantado no momento da secção das amostras.

Em seguida, as superfícies de esmalte e dentina foram observadas em microscópio óptico com aumento de 30 vezes (Hikita et al., 2007), lavadas em água corrente por 1 minuto e secas com jatos de ar sem impurezas.

A análise das características morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina foi feita em três períodos distintos (n=3): 1) Antes do clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%; 2) Após o clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%; 3) Após a aplicação de cada um dos agentes antioxidantes.

#### 4.2.2 Clareamento dental

Doze amostras de esmalte e dentina foram clareadas com o gel de peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost, Ultradent Products Inc.), pH 7,0, em uma espessura de aproximadamente 1 mm, com agitação a cada 5 minutos, num total de 15 minutos. A aplicação do gel foi repetida 4 vezes, sem fotoativação, seguindo as instruções do fabricante.

Finalizado o procedimento clareador, as amostras foram lavadas por 1 minuto (Hegedüs et al., 1999) e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 horas.

#### 4.2.3 Aplicação dos agentes antioxidantes

Após o clareamento dental, 9 amostras de esmalte e dentina receberam a aplicação de três agentes antioxidantes (n=3): 1) Ascorbato de sódio; 2) Catalase; 3) Peroxidase.

As amostras foram imersas nas soluções dos agentes antioxidantes por um período de 10 minutos, com agitação usando um pincel microbrush (Bulut et al., 2006; Kaya, Türkün, 2003; Türkün, Kaya, 2004) a cada 3 minutos. Finalizada a aplicação, as amostras foram lavadas por 30 segundos e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 horas.

#### 4.2.4 Avaliação morfológica e estrutural

Todas as amostras foram fixadas com solução de Karnovsky (2,5% de glutaraldeído e 0,1 M de cacodilato de sódio) por 12 horas, seguida por 3 trocas consecutivas de 0.2 M de cacodilato de sódio (Electron



Microscopy Sciences, Hatfield, PA, EUA, Lote 080902). Em seguida, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (Álcool etílico, Thermal Fischer Scientific Inc., EUA, Lote AD820454) em diferentes períodos. Primeiramente, as amostras foram imersas em etanol a 25%, 50% e 75% por 20 minutos. Na concentração de 95% as amostras foram mantidas por 30 min e em etanol puro (100%) por 1 hora. Após a desidratação, as amostras foram imersas em HMDS (Hexamethyldisilazane) por 10 minutos e mantidas em capela química de laboratório até a evaporação completa do produto. Por último, as amostras foram armazenadas em vácuo, montadas em bases metálicas especiais (Stubs) e metalizadas com uma camada condutora de carbono, depositada através do processo de "sputtering". A análise das características morfológicas e estruturais do esmalte e da dentina foi feita utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo (MEV-EC, S-4500, Hitachi, CA, EUA) presente no Department of Materials Science and Engineering, Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, EUA (Figura 8). Imagens das superfícies de esmalte e dentina foram obtidas em 4 ampliações: 5000, 10000, 15000 e 25000 vezes.



Figura 8 – Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo utilizado para análise da morfologia do esmalte e da dentina.

#### 4.2.5 Análise dos dados

A análise da metodologia 2 foi feita de forma qualitativa através das imagens de microscopia obtidas.

### **4.3 Avaliação do efeito do tratamento clareador e de agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina imediata e após o envelhecimento artificial das restaurações**

#### 4.3.1 Preparo dos dentes para microtração em esmalte

Dezoito terceiros molares foram seccionados na junção amelo-cementária e no sentido vestibulo-lingual (Figura 7A), com o intuito de remover a superfície radicular e obter duas hemi-seções: uma mesial e uma distal, que foram utilizadas para os procedimentos de microtração em esmalte. As amostras apresentaram dimensões pré-definidas (Perdigão et al., 2005) de 8,0 X 4,0 mm<sup>2</sup> (Figura 7B).

#### 4.3.2 Preparo dos dentes para microtração em dentina

Dezoito terceiros molares foram seccionados a 2,5 mm acima e a 4 mm abaixo da união amelo-cementária para os procedimentos de microtração em dentina. Cada superfície dentinária foi dividida em duas metades, resultando em duas amostras de dentina por dente (Figura 9). Com o intuito de padronizar a camada de smear layer, uma lixa de carbureto de silício com granulação 600 (Pashley 1984; Silikas et al., 1999) (ISO 6344-1) foi utilizada sobre a dentina por 1 minuto sob refrigeração.

As polpas coronárias e radiculares foram removidas com instrumentos manuais pelo ápice da raiz. Os canais foram condicionados com ácido fosfórico a 37% (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) por 30 segundos e selados com o sistema adesivo Adper Single Bond Plus (3M ESPE) e a resina Tetric Evoflow (Ivoclar Vivadent Inc., Amherst, NY, EUA) seguindo as recomendações dos fabricantes.

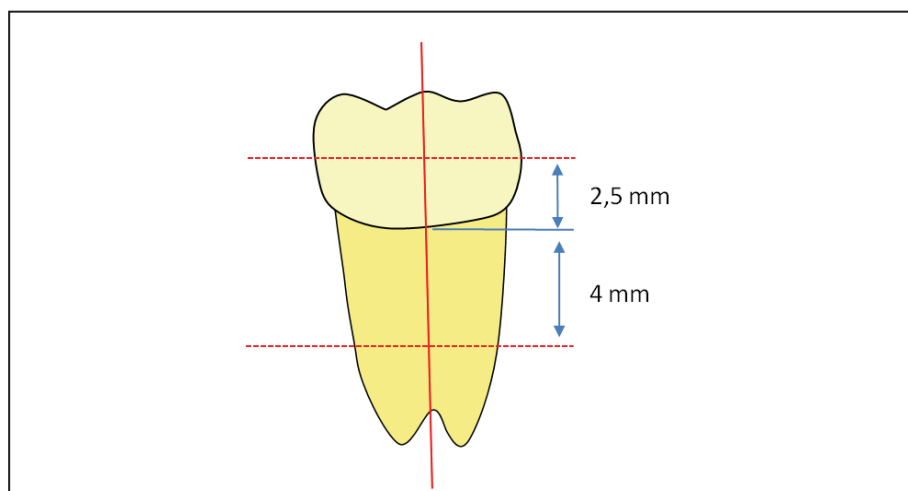


Figura 9 – Esquema representando a secção de terceiro molar 2,5 mm acima e 4 mm abaixo da união amelo-cementária. Secção vestibulo-lingual do dente para obtenção de duas amostras de dentina por dente.

Todas as secções de esmalte e dentina foram realizadas em uma máquina de cortes seriados ISOMET 1000<sup>®</sup> (Buehler Ltda.) utilizando um disco de diamante em baixa velocidade (525rpm), sob refrigeração.

#### 4.3.3 Análise da força de adesão

As amostras obtidas foram distribuídas ao acaso em 2 grupos controles e 10 grupos experimentais (n=6) de acordo com a área de adesão (esmalte ou dentina), o emprego do peróxido de hidrogênio a 38%, momento da adesão (imediate ou após 7 dias) e agentes antioxidantes utilizados (ascorbato de sódio, catalase ou peroxidase) (Quadro 1).

Quadro 1 – Grupos controles e experimentais para análise da força de adesão.

Grupos	Descrição	Área de adesão
G1	Sem clareamento (controle) + adesão após 7 dias	Esmalte
G2	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% + adesão imediata	
G3	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%+ adesão após 7 dias	
G4	Peróxido de hidrogênio 38% + ascorbato de sódio + adesão imediata	
G5	Peróxido de hidrogênio 38% + catalase + adesão imediata	
G6	Peróxido de hidrogênio 38% + peroxidase + adesão imediata	
G7	Sem clareamento (controle) + adesão após 7 dias	Dentina
G8	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% + adesão imediata	
G9	Clareamento com peróxido de hidrogênio a 38%+ adesão após 7 dias	
G10	Peróxido de hidrogênio 38% + ascorbato de sódio + adesão imediata	
G11	Peróxido de hidrogênio 38% + catalase + adesão imediata	
G12	Peróxido de hidrogênio 38% + peroxidase + adesão imediata	

Os grupos G2 e G8 foram restaurados imediatamente após o tratamento clareador. As amostras dos grupos G3 e G9 foram mantidas em água destilada e restauradas 7 dias após o clareamento. Os grupos controles (G1 e G7) foram mantidos em água destilada por 7 dias até o momento de serem restaurados. Os demais grupos experimentais (G4–G6 e G10-G12) foram restaurados imediatamente após a aplicação dos agentes antioxidantes.

Cada grupo foi dividido em dois subgrupos (n=3) de acordo com o momento de análise da resistência adesiva: 1) 24 horas após o procedimento restaurador; 2) Após 5 anos de envelhecimento artificial.

#### 4.3.4 Clareamento dental

As amostras de esmalte e dentina dos grupos experimentais foram clareadas 4 vezes com o gel de peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost, Ultradent Products Inc.), pH 7,0, por 15 minutos cada, sem fotoativação, seguindo as instruções do fabricante.

Finalizado o procedimento clareador, as amostras foram lavadas com jatos de água por 1 minuto (Hegedüs et al., 1999).

#### 4.3.5 Aplicação dos agentes antioxidantes

Imediatamente após o clareamento dental, as amostras dos grupos G4-G6 e G10-G12 foram imersas em soluções de três agentes antioxidantes (ascorbato de sódio, catalase, peroxidase) por 10 minutos, com agitação a cada 3 minutos usando um pincel microbrush (Bulut et al., 2006; Kaya, Türkün, 2003; Türkün, Kaya, 2004). Finalizada a aplicação, as amostras foram lavadas com água destilada por 30 segundos.

#### 4.3.6 Confecção das restaurações de resina composta

Para dar início ao procedimento restaurador, as amostras de esmalte e dentina foram envolvidas por matrizes metálicas soldadas de 7 mm de altura (Injecta Produtos Odontológicos, Diadema, SP, Brasil) estabilizadas com godiva de baixa fusão (Kerr, Orange, CA, EUA). O condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, Lotes 7JG e 9NA), foi feito por 15 segundos para a dentina e por 30 segundos para o esmalte e a aplicação do sistema adesivo Adper Single Bond Plus (3M ESPE, Lotes 9UM e 6HN) de acordo com as instruções do fabricante. Restaurações de

resina composta de 6 mm de altura foram confeccionadas em 3 incrementos de 2 mm cada, utilizando a resina composta microhíbrida Z250 (3M ESPE, Lotes 9HT e 9EN), cor A2 (Perdigão et al., 2005). O sistema adesivo e a restauração de resina composta foram fotopolimerizados por 10 e 20 segundos, respectivamente, usando o aparelho de luz halógena Curing Light XL 3000 (3M ESPE), com uma intensidade média de  $850 \text{ mW/cm}^2$ , monitorada a cada uso por um radiômetro.

O sistema adesivo e o material restaurador foram mantidos constantes para a efetiva avaliação da influência dos agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte e à dentina após o tratamento clareador.

Após o procedimento restaurador, as matrizes foram removidas e os espécimes foram mantidos em água destilada a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas (Kum et al., 2004).

#### 4.3.7 Envelhecimento Artificial

Três espécimes de todos os grupos (G1 a G12) foram submetidos a 20000 ciclos térmicos (Thermocycler THE1100, SD Mechatronik GmbH, Munique, Alemanha) em água nas temperaturas de  $5^\circ\text{C}$  a  $55^\circ\text{C}$ , com tempos de permanência de 30 segundos e de transferência de 5 segundos, para simular as mudanças de temperatura no meio oral (Figura 10).



Figura 10 – Equipamento de termociclagem (Thermocycler THE1100) usado para submeter os espécimes às alterações térmicas.

Em seguida, os espécimes foram submetidos a estresse de aplicação de carga em aparelho de mastigação (Chewing simulator CS-3, SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, Alemanha) presente no Department of Comprehensive Care da Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio, EUA (Figura 11). Esferas de aço foram usadas como antagonistas, numa velocidade de 35 mm/s e energia cinética de  $2450 \text{ J} \times 10^{-6}$ . Movimentos verticais foram aplicados aos espécimes com uma carga de 50 N e frequência de 1,6 Hz, totalizando 1200000 ciclos. Este método permite simular 5 anos de envelhecimento e atividade mastigatória das restaurações (Blatz et al., 2008).



Figura 11 – Aparelho de mastigação (Chewing Simulator CS-3) usado para aplicar carga sobre os espécimes.



#### 4.3.8 Obtenção dos espécimes para o teste de microtração

O preparo dos espécimes para o teste de microtração foi feito em 2 momentos: 1) Após o armazenamento em água destilada a 37°C por 24 horas para os espécimes que simularam a análise a curto prazo da resistência adesiva; 2) Após o envelhecimento artificial para os espécimes que simularam a análise da resistência adesiva a longo prazo, ou seja, após 5 anos de função mastigatória e alterações térmicas.

Todos os espécimes foram fixados em suporte metálico e posicionados em máquina de corte de precisão (ISOMET 1000<sup>®</sup>, Buehler Ltda.). Os espécimes foram seccionados nos eixos X e Y, utilizando o disco de diamante em baixa velocidade (525 rpm) com irrigação constante. Com a mesma máquina de corte, foi feito o último corte das amostras, perpendicularmente ao seu longo eixo, obtendo-se palitos com secção transversal de  $0,8 \pm 0,2 \text{ mm}^2$ .

Posteriormente, os palitos foram levados ao microscópio óptico para avaliar possíveis falhas na interface adesiva, o que levaria a exclusão do espécime. Os espécimes que sofreram ruptura completa (debonding) na interface adesiva durante sua secção, anteriormente ao teste de microtração, foram contabilizados e considerados como valor zero de resistência adesiva. Estes dados foram usados posteriormente no cálculo da força de união dos espécimes e seus respectivos grupos.

#### 4.3.9 Teste de microtração

Os espécimes selecionados para o teste de microtração tiveram seus diâmetros mensurados por um paquímetro universal com leitura eletrônica (DIGIMATIC CALIPER<sup>®</sup>, Mitutoyo Absolute Digital, Kanogawa, Japão) com precisão de 0,01 mm (Figura 12).



Figura 12 – Mensuração dos espécimes realizada com um paquímetro universal.

Em seguida, os palitos foram presos ao dispositivo de microtração através de uma cola a base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of America, CA, EUA) associada a um acelerador (Zapit Accelerator<sup>®</sup>, Dental Aventures of América Inc, CA, EUA) posicionando a interface adesiva perpendicularmente a força de tração.

O teste de microtração foi realizado em uma Máquina de Ensaio Universal (Instron Co.,Canton, MA, EUA) com célula de carga de 100 lbs, frequência de 50 Hz e uma velocidade de 1 mm/min até o momento da fratura do espécime (Basting et al., 2007) (Figura 13). Desse modo, o teste foi cessado e os dados de resistência adesiva foram fornecidos em MPa pelo próprio programa do computador (Test Works 4, MTS Nano Instruments, Oak Ridge, TN, EUA) acoplado a máquina de microtração.

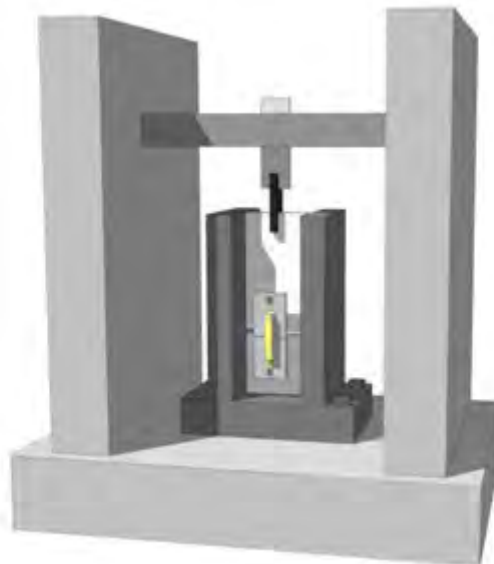


Figura 13 – Espécime posicionado em Máquina de Ensaio Universal para realização do teste de microtração.

As superfícies fraturadas foram secas com papel absorvente e analisadas pelo microscópio óptico em aumento de 50 vezes (Goracci et al., 2004). As falhas foram classificadas em três tipos: 1) adesiva: entre o substrato e a resina composta, 2) coesiva na resina composta ou no substrato, 3) mista.

#### 4.3.10 Análise estatística

A estatística descritiva dos dados foi apresentada com os valores de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio padrão, mínimo e máximo). A influência das variáveis independentes (emprego ou não do peróxido de hidrogênio a 38%, momento da adesão: imediata ou após 7 dias; agentes antioxidantes usados: ascorbato de sódio,

catalase e peroxidase) sobre a variável dependente (força de adesão ao esmalte e à dentina) foi avaliada.

A significância estatística das diferenças dos valores de força de adesão entre os grupos experimentais foi testada mediante à análise não paramétrica de Kruskal Wallis e teste de Dunn, a 5% de significância.

Os valores de força de adesão foram comparados entre si antes e após o envelhecimento para cada grupo experimental pelo teste Mann-Whitney (5%).

Os dados tiveram representação gráfica e foram submetidos à análise estatística inferencial com os programas computacionais STATISTICA (1995, version 5.0, StatSoft, Inc.) e STATISTIX (2000, version 7.0, Analytical Software Inc.), respectivamente.

## **5 RESULTADO**

Para melhor compreensão dos dados, os resultados foram distribuídos de acordo com a análise (rugosidade superficial, morfologia e força de adesão) e o substrato (esmalte e dentina) utilizados.

### **5.1 Rugosidade superficial**

#### **5.1.1 Esmalte**

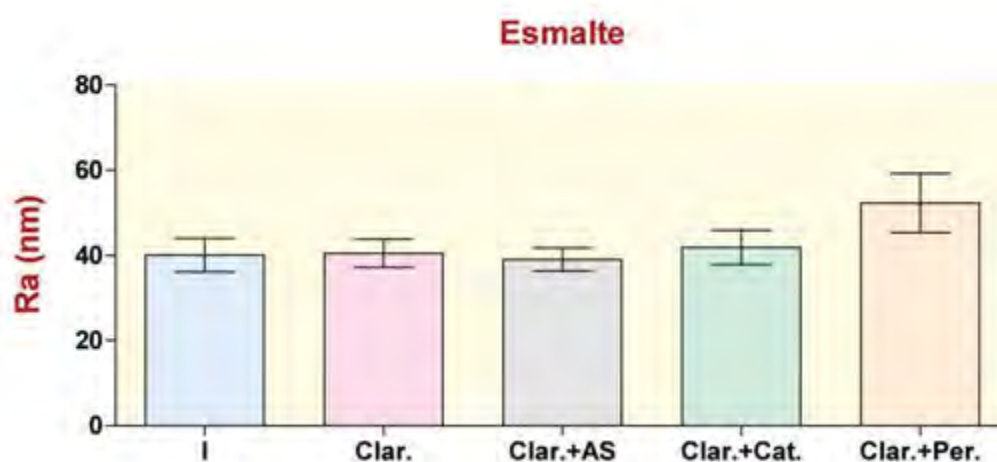
Os dados obtidos no ensaio de rugosidade superficial do esmalte (Tabela 1 no Apêndice A) foram submetidos à estatística descritiva e inferencial.

##### **5.1.1.1 Estatística Descritiva**

A estatística descritiva apresentada na Tabela 2 é representada pelo gráfico de colunas (média e desvio-padrão) na Figura 14.

Tabela 2 – Estatística descritiva da rugosidade superficial (nm) do esmalte

Condição experimental	n	média	dp	cv (%)	mín	máx
Intacto (sem clareamento)	9	40,1	4,0	9,9	32,8	46,0
Clareamento	9	40,5	3,3	8,2	34,1	44,8
Clareamento + asc. sódio	9	39,0	2,7	6,9	33,5	41,8
Clareamento + catalase	9	41,9	4,0	9,6	36,5	47,1
Clareamento + peroxidase	9	52,3	6,9	13,2	40,6	58,1

Figura 14 – Gráfico de colunas (média  $\pm$  desvio padrão) dos dados de rugosidade superficial do esmalte segundo as condições experimentais.

Diante do apresentado acima, observa-se que a peroxidase aumentou a rugosidade superficial do esmalte.

#### 5.1.1.2 Estatística Inferencial

Para avaliar o efeito do clareamento e dos agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial do esmalte, foi efetuada a análise de variância (ANOVA, 1 fator).

Para isso, os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade de variância (estatística de Bartlett,  $X^2= 8,30$ ;  $gl= 4$ ;  $p= 0,0812$ ) e normalidade dos resíduos (teste de Anderson Darling,  $AD= 0,739$ ;  $p= 0,05$ ). Verificou-se que os valores de dispersão absoluta (desvio padrão) não diferiram estatisticamente.

O resultado do teste ANOVA é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Análise de variância dos dados de rugosidade superficial do esmalte

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	4	1065,0	266,3	13,5	0,00001*
Resíduo	40	786,0	19,7		
Total	44	1851,0			

\* $<0,05$

A hipótese de igualdade entre os valores médios de rugosidade superficial do esmalte foi rejeitada porque houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos realizados na superfície do esmalte ( $p=0.00001$ ).

Por meio do teste de comparação múltipla de Tukey (5%), foram estabelecidos dois grupos homogêneos (denotados pelas letras A e B) de mesmo desempenho em termos de rugosidade superficial do esmalte (Tabela 4).

Tabela 4 – Formação de grupos homogêneos (de mesmo desempenho) quanto a rugosidade média do esmalte ( $R_a$ ), de acordo com a condição experimental, após a aplicação do Teste de Tukey (5%)

Condição experimental	Ra (nm)	Grupos homogêneos*
Intacto (Sem clareamento)	40,1	A
Clareamento	40,5	A
Clareamento + ascorbato sódio	39,0	A
Clareamento + catalase	41,9	A
Clareamento + peroxidase	52,3	B

\*médias seguidas de letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa

Verifica-se que a peroxidase aumentou a rugosidade superficial do esmalte. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os outros tratamentos avaliados.

#### 5.1.1.3 Análise qualitativa

Os resultados obtidos podem ser melhor visualizados em imagens de MFA em 3 dimensões do esmalte intacto (sem clareamento – Figura 15), clareado (Figura 16) e após aplicação dos agentes antioxidantes: ascorbato de sódio (Figura 17), catalase (Figura 18) e peroxidase (Figura 19).



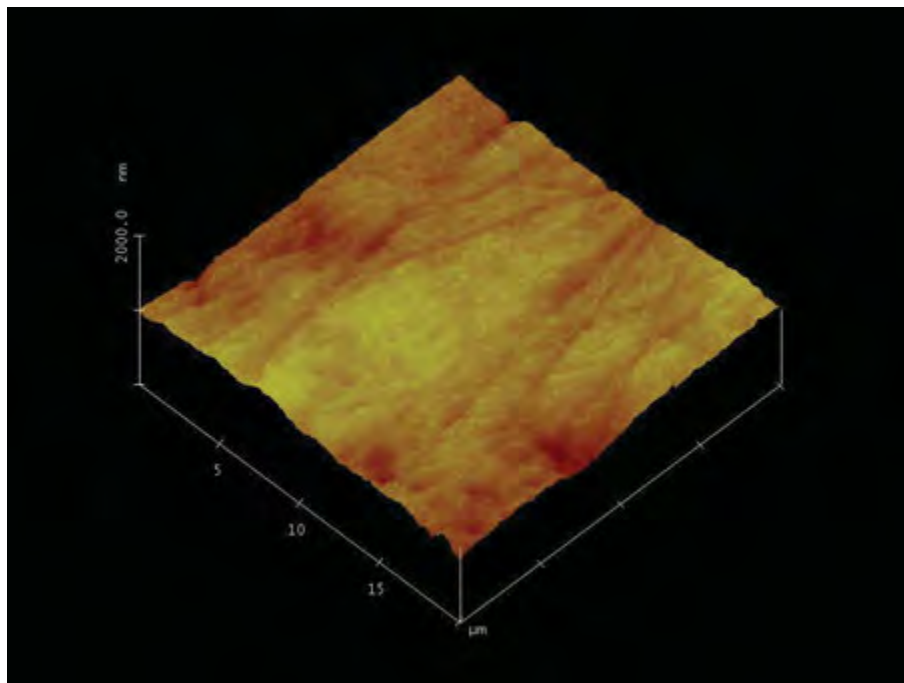


Figura 15 – Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  do esmalte humano intacto (sem clareamento) obtida pela MFA.

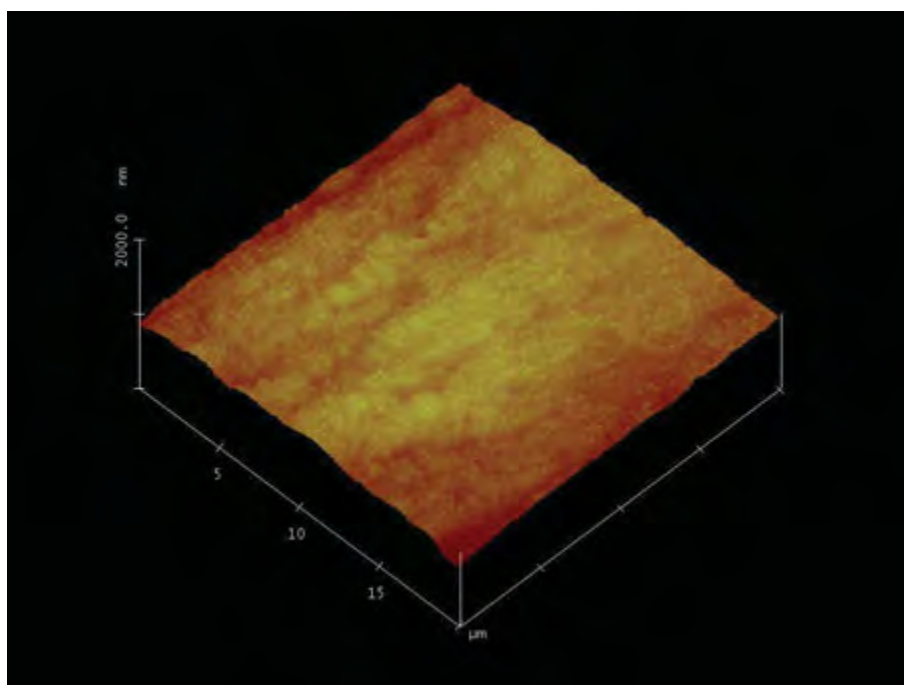


Figura 16 – Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  do esmalte clareado obtida pela MFA.

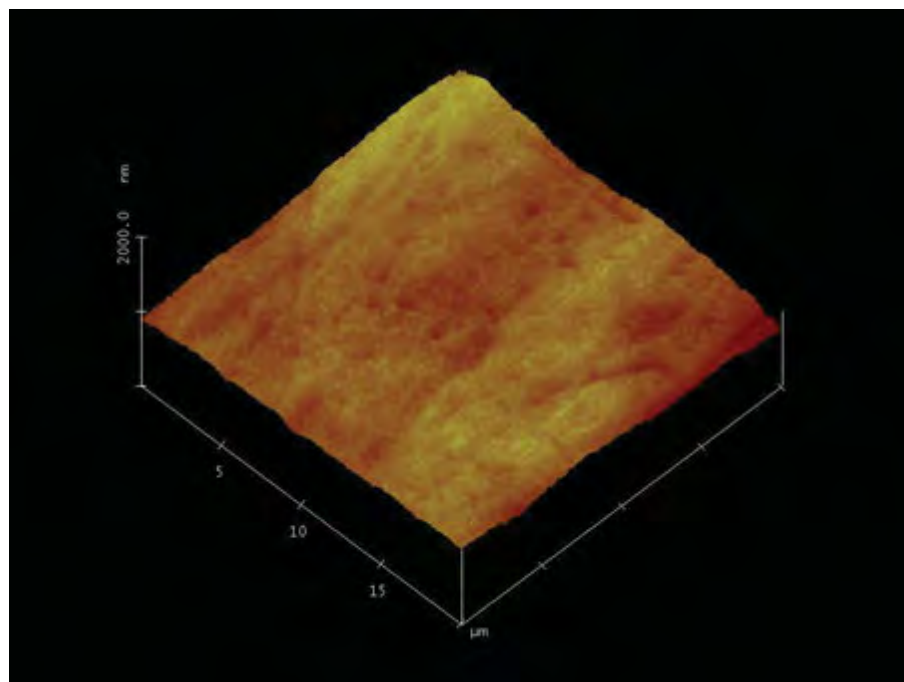


Figura 17 – Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  do esmalte após o clareamento e aplicação do ascorbato de sódio, obtida pela MFA.

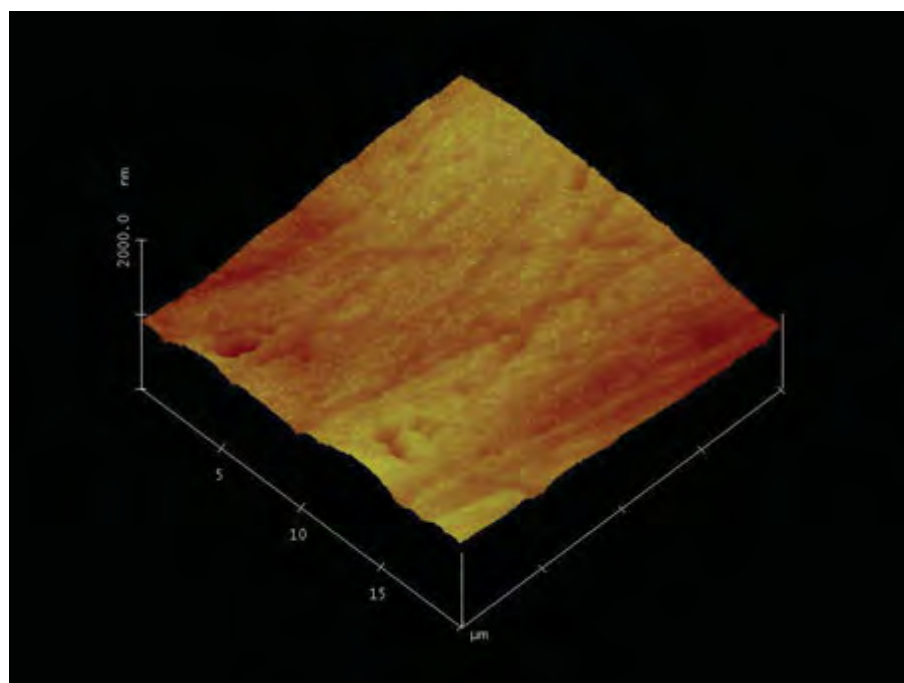


Figura 18 – Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  do esmalte após o clareamento e aplicação da catalase, obtida pela MFA.

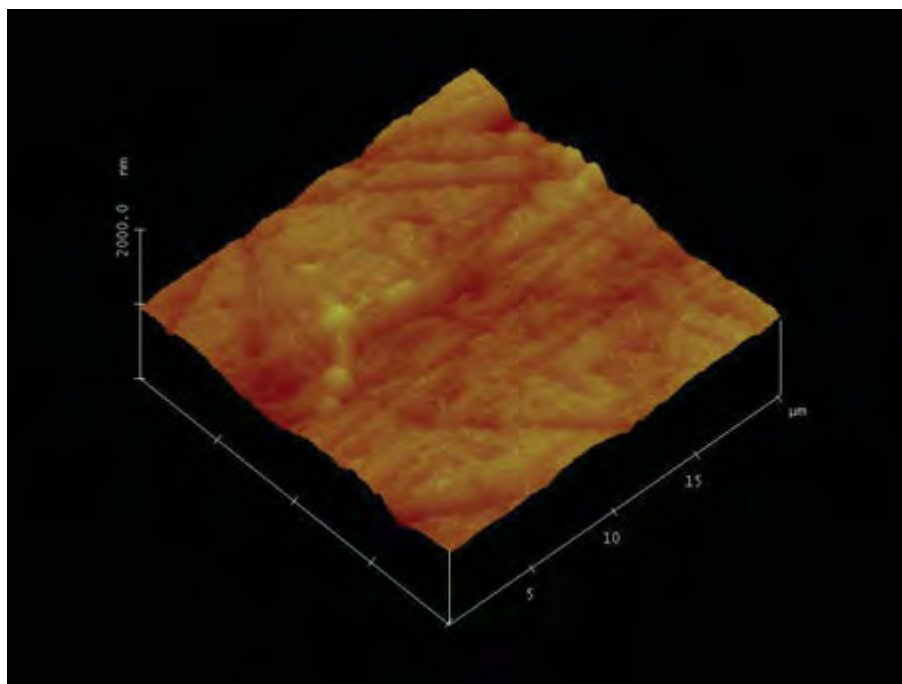


Figura 19 - Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  do esmalte após o clareamento e aplicação da peroxidase, obtida pela MFA.

Observa-se que a rugosidade superficial do esmalte foi aumentada apenas após a aplicação da peroxidase.

### 5.1.2 Dentina

Os dados obtidos no ensaio de rugosidade superficial da dentina (Tabela 5 no Apêndice B) foram submetidos à estatística descritiva e inferencial.

#### 5.1.2.1 Estatística Descritiva

A estatística descritiva apresentada na Tabela 6 é representada pelo gráfico de colunas (média e desvio-padrão) na Figura 20.

Tabela 6 – Estatística descritiva da rugosidade superficial (nm) da dentina

Condição experimental	n	média	dp	cv (%)	mín	máx
Intacto (sem clareamento)	9	27,7	3,7	13,4	21,7	32,4
Clareamento	9	79,8	4,7	5,9	72,8	86,5
Clareamento + asc. sódio	9	95,5	9,2	9,7	82,4	107,9
Clareamento + catalase	9	58,4	5,8	9,9	51,0	68,2
Clareamento + peroxidase	9	83,8	8,8	10,5	73,1	94,6

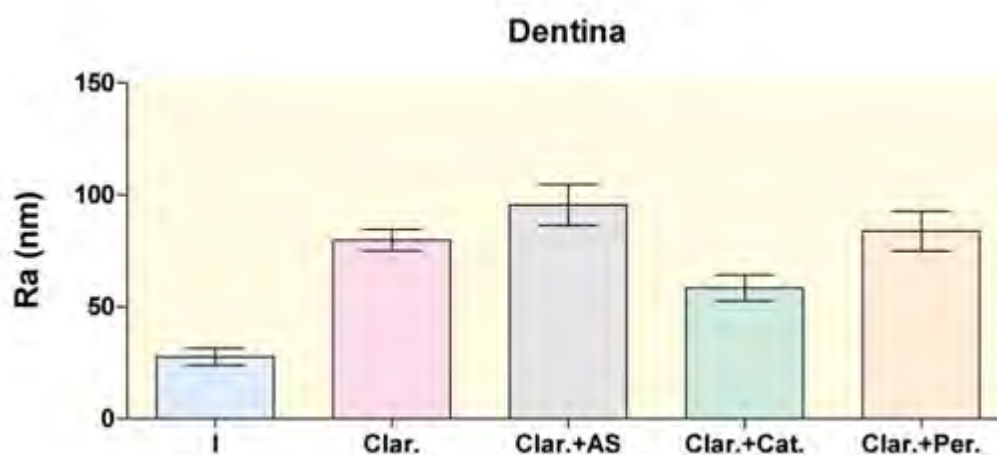


Figura 20 – Gráfico de colunas (média  $\pm$  desvio padrão) dos dados de rugosidade superficial da dentina segundo as condições experimentais.

Diante do apresentado acima, observa-se que a dentina clareada+ascorbato de sódio apresentou a maior rugosidade superficial ( $95,5 \pm 9,2$  nm), a dentina intacta a menor rugosidade ( $27,7 \pm 3,7$  nm) e os demais grupos valores intermediários de rugosidade superficial.

### 5.1.2.2 Estatística Inferencial

Para avaliar o efeito do clareamento e dos agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial da dentina, foi efetuada a análise de variância (ANOVA, 1 fator).

Para isso, os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade de variância (estatística de Bartlett,  $X^2= 8,833$ ;  $gl= 4$ ;  $p= 0,0654$ ) e normalidade dos resíduos (teste de Anderson Darling,  $AD= 0,251$ ;  $p= 0,726$ ). Verificou-se que os valores de dispersão absoluta (desvio padrão) não diferiram estatisticamente.

O resultado do teste ANOVA é apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Análise de variância dos dados de rugosidade superficial da dentina

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	4	25697,5	6424,4	138	0,00001*
Resíduo	40	1857,5	46,4		
Total	44	27555,0			

\* $<0,05$

Foi possível rejeitar a hipótese de igualdade entre os valores médios de rugosidade superficial da dentina porque houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos realizados em sua superfície ( $p=0.00001$ ).

Por meio do teste de comparação múltipla de Tukey (5%), foram estabelecidos quatro grupos homogêneos (denotados pelas letras A,

B, C e D) de mesmo desempenho em termos de rugosidade superficial da dentina (Tabela 8).

Tabela 8 – Formação de grupos homogêneos (de mesmo desempenho) quanto a rugosidade média da dentina (Ra), de acordo com a condição experimental, após a aplicação do Teste de Tukey (5%)

Condição experimental	Ra (nm)	Grupos homogêneos*
Intacto (sem clareamento)	27,7	A
Clareamento	79,8	C
Clareamento +ascorbato sódio	95,5	D
Clareamento + catalase	58,4	B
Clareamento + peroxidase	83,8	C

\*médias seguidas de letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa

Observou-se que o peróxido de hidrogênio e todos os agentes antioxidantes, principalmente o ascorbato de sódio, aumentaram a rugosidade superficial da dentina.

### 5.1.2.3 Análise qualitativa

Os resultados obtidos podem ser melhor visualizados em imagens de MFA em 3 dimensões da dentina intacta (sem clareamento – Figura 21), clareada (Figura 22) e após aplicação dos agentes antioxidantes: ascorbato de sódio (Figura 23), catalase (Figura 24) e peroxidase (Figura 25).

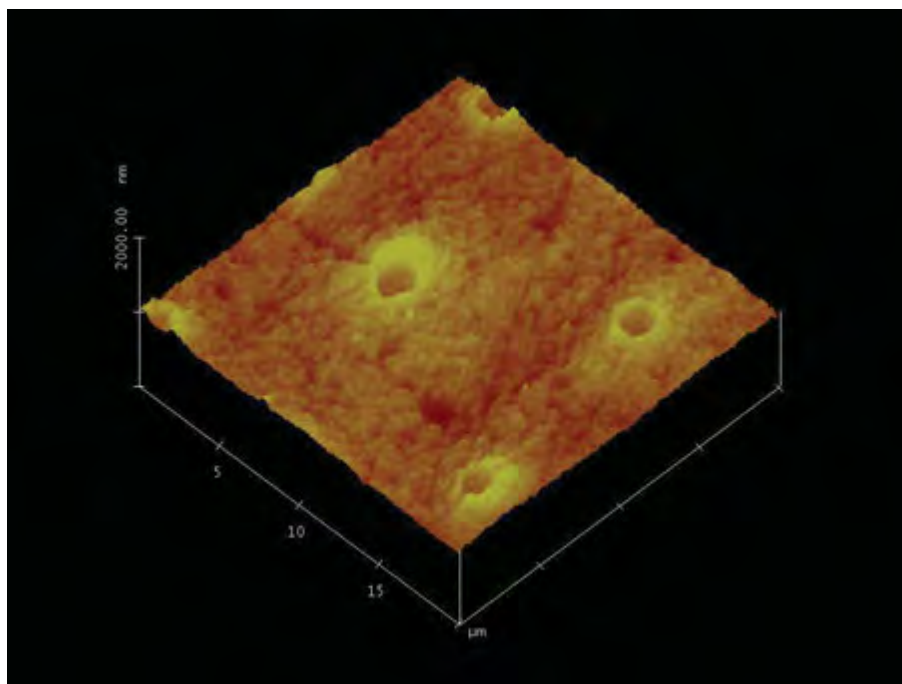


Figura 21 – Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  da dentina humana intacta (sem clareamento) obtida pela MFA.

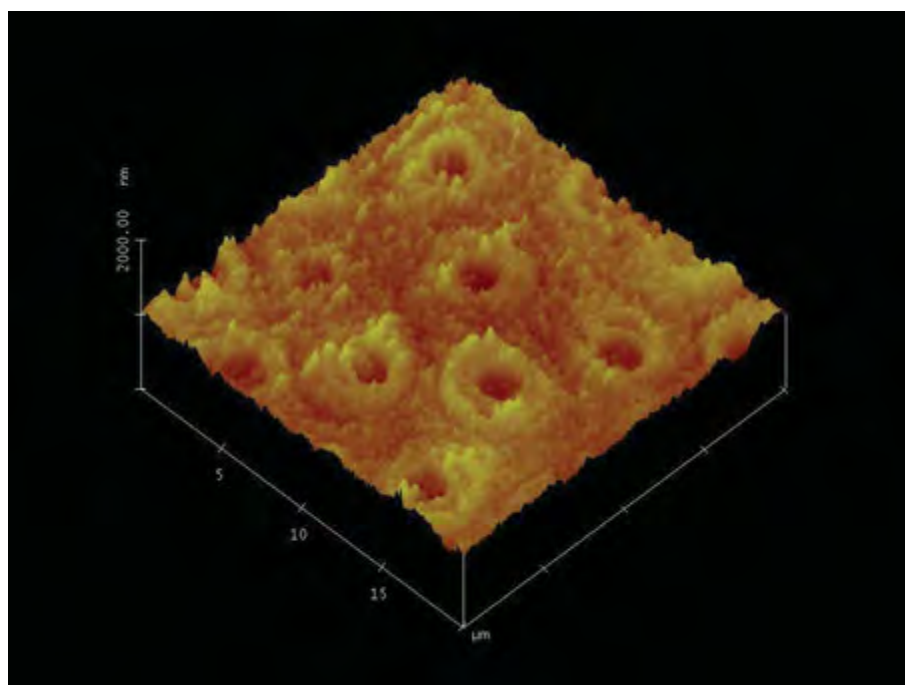


Figura 22 - Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  da dentina clareada obtida pela MFA.

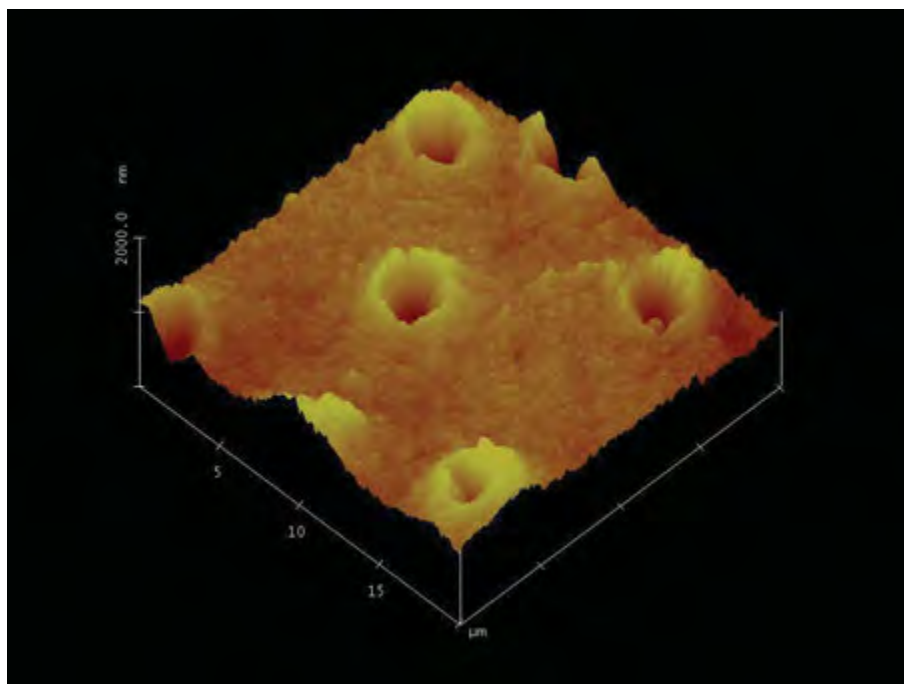


Figura 23 – Imagem em 3D de 20 µm X 20 µm da dentina após clareamento e aplicação do ascorbato de sódio, obtida pela MFA.

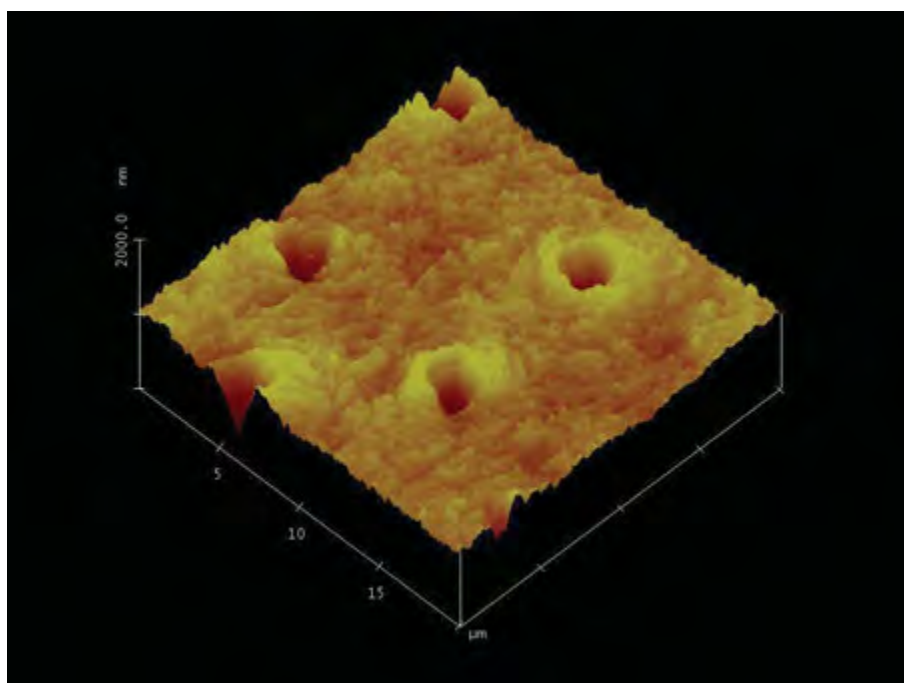


Figura 24 – Imagem em 3D de 20 µm X 20 µm da dentina após clareamento e aplicação da catalase, obtida pela MFA.



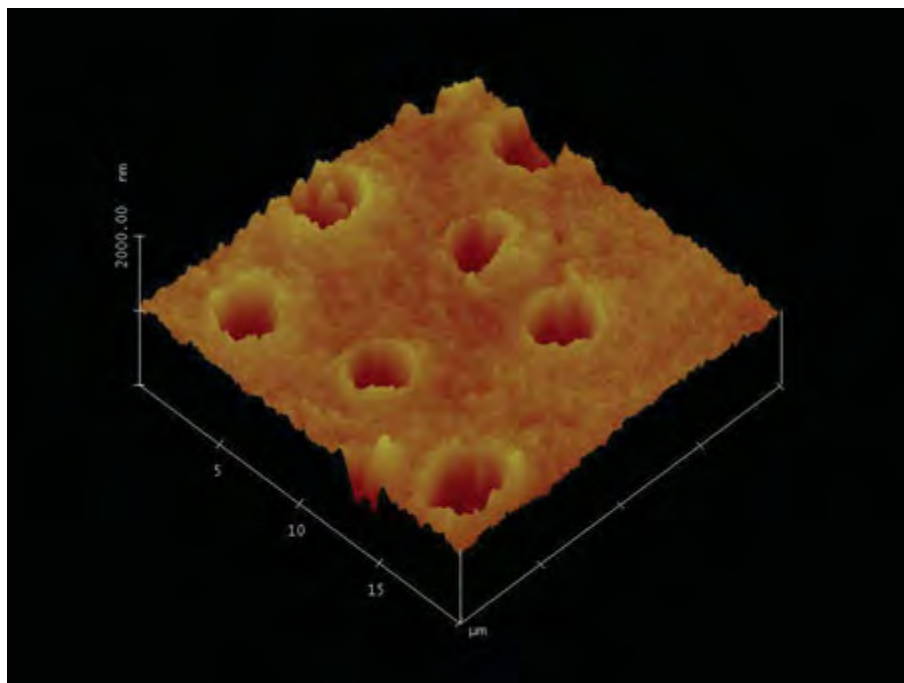


Figura 25 - Imagem em 3D de 20  $\mu\text{m}$  X 20  $\mu\text{m}$  da dentina após clareamento e aplicação da peroxidase, obtida pela MFA.

## 2 Morfologia superficial

### 5.2.1 Esmalte

As eletromicrografias do esmalte nas diferentes condições experimentais estão representadas nas Figuras 25 a 29.

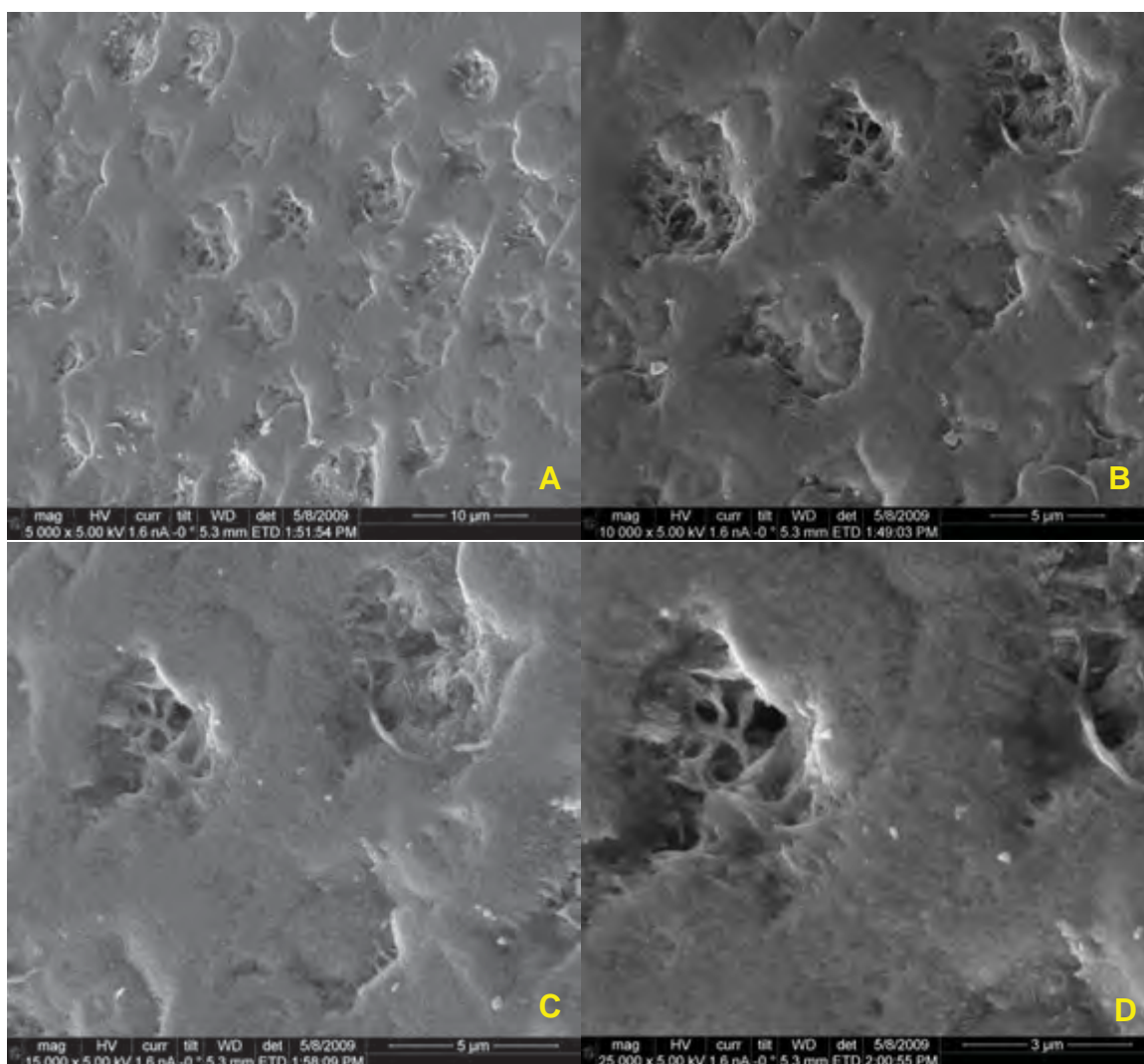


Figura 25 – Fotomicrografia eletrônica de varredura do esmalte intacto (sem clareamento) nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

O esmalte intacto apresenta uma superfície homogênea, onde é possível observar os prismas de esmalte.

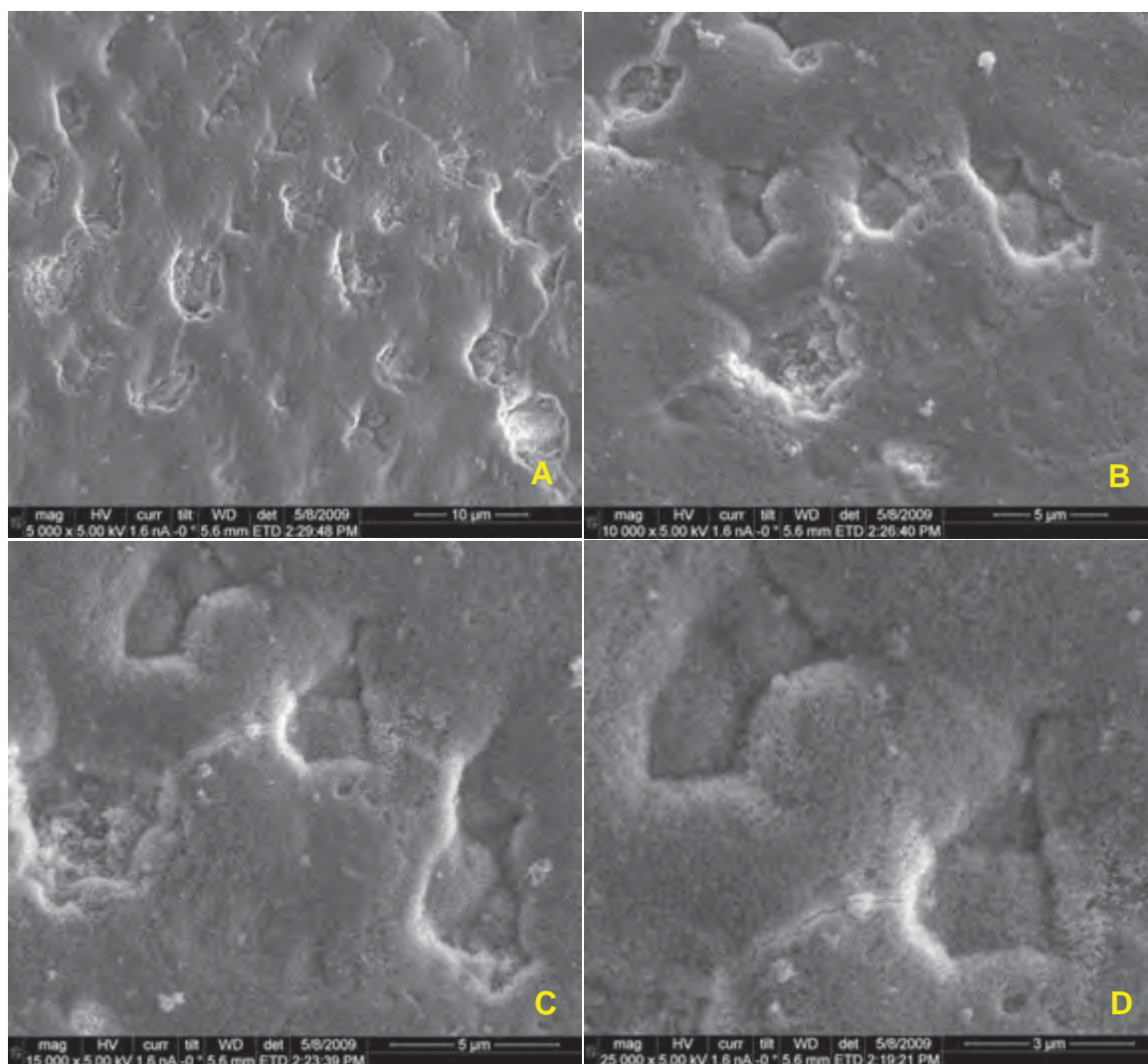


Figura 26 – Fotomicrografia eletrônica de varredura do esmalte clareado nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

O clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% promoveu mínima descalcificação interprismática com exposição de cristais de hidroxiapatita na superfície do esmalte.

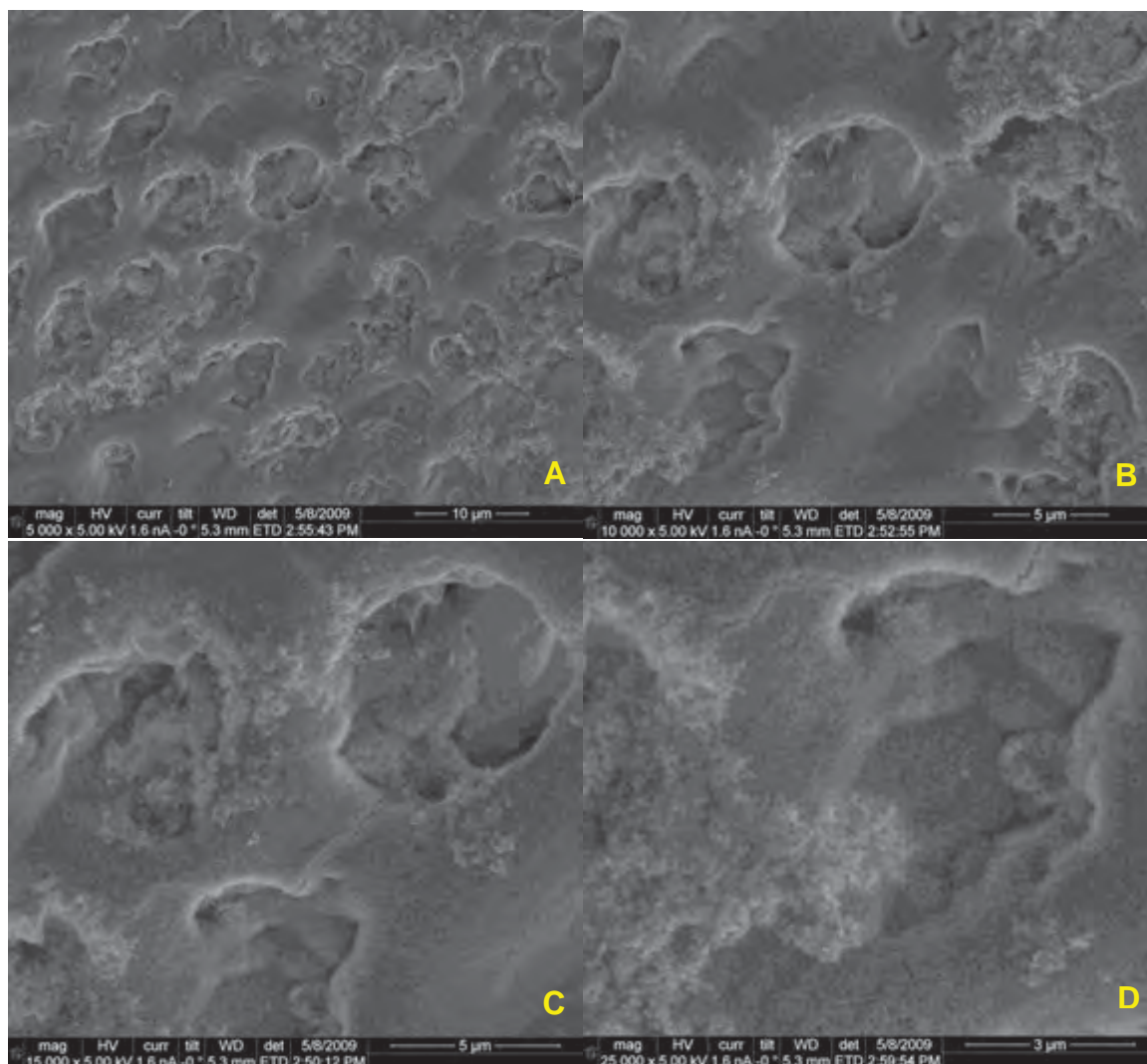


Figura 27 – Fotomicrografia eletrônica de varredura do esmalte após o clareamento e aplicação do ascorbato de sódio nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

Com a aplicação do ascorbato de sódio houve depósito de cristais de sódio sobre a área descalcificada pelo peróxido de hidrogênio a 38%.

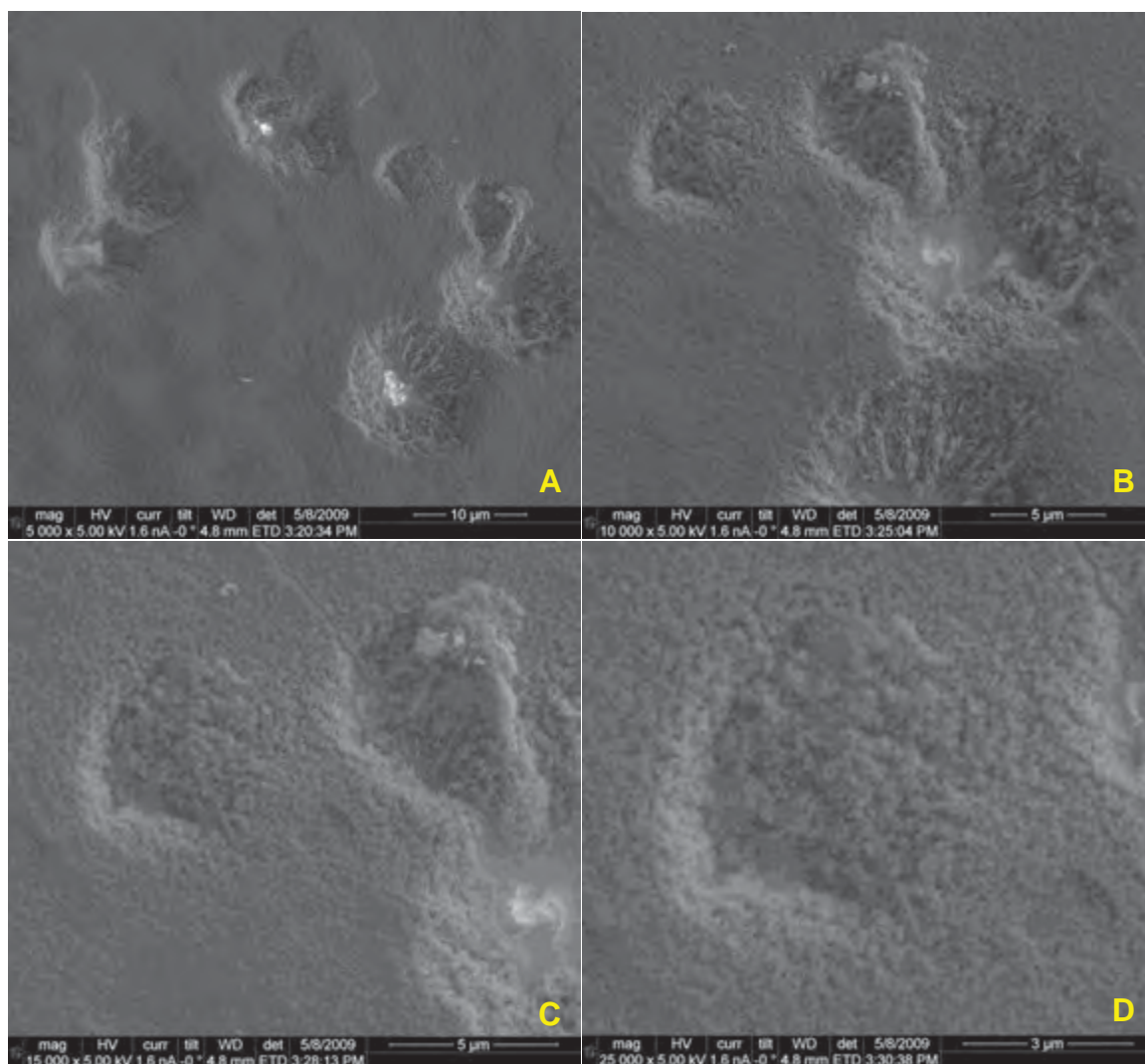


Figura 28 – Fotomicrografia eletrônica de varredura do esmalte após o clareamento e aplicação da catalase nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

As alterações observadas no esmalte sugerem ação do peróxido de hidrogênio a 38%. A catalase promoveu pouco efeito sobre a superfície do esmalte.

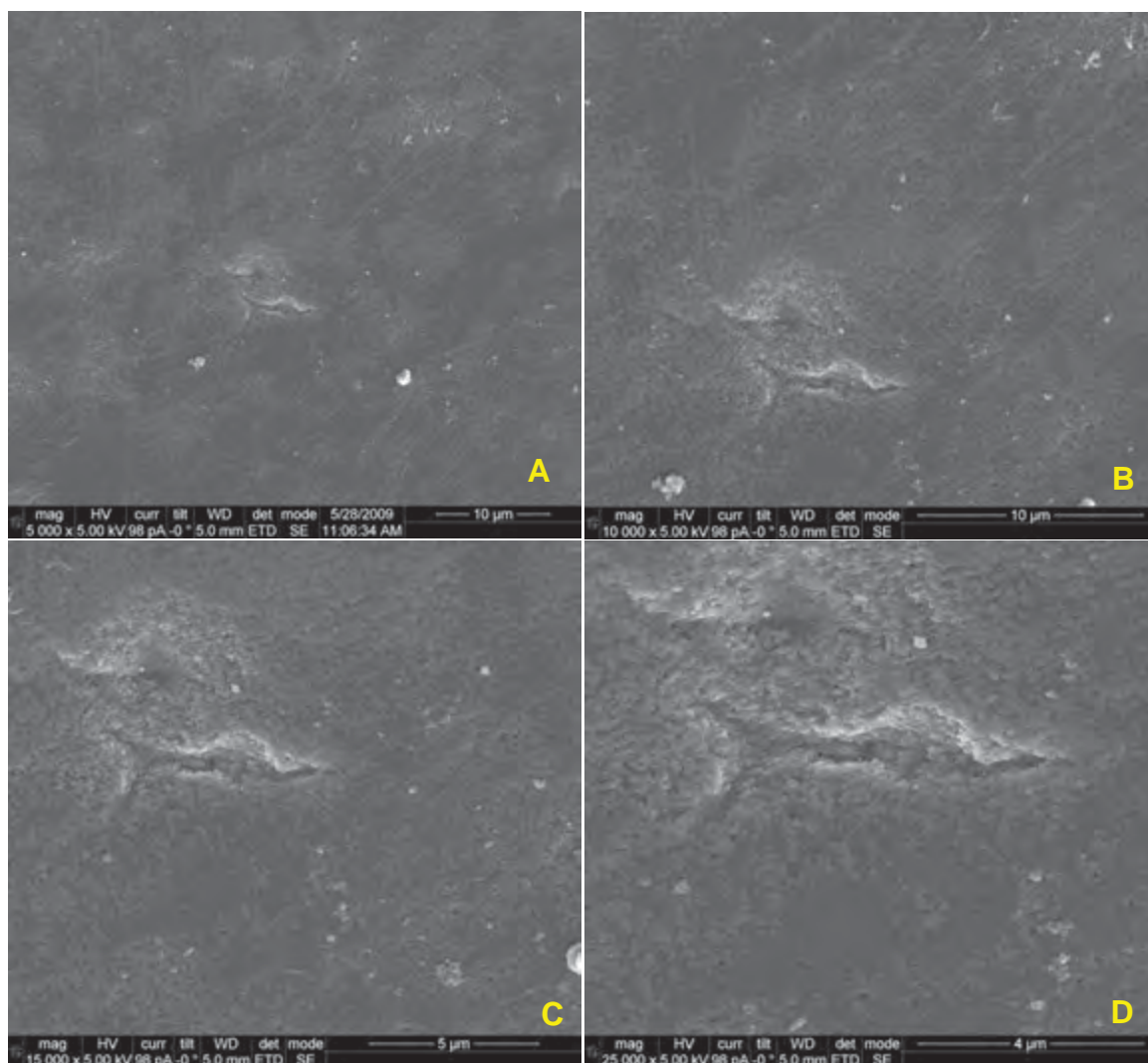


Figura 29 – Fotomicrografia eletrônica de varredura do esmalte após o clareamento e aplicação da peroxidase nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

A peroxidase promoveu uma oxidação da superfície do esmalte.

### 5.2.2 Dentina

As eletromicrografias da dentina nas diferentes condições experimentais estão representadas nas Figuras 30 a 34.

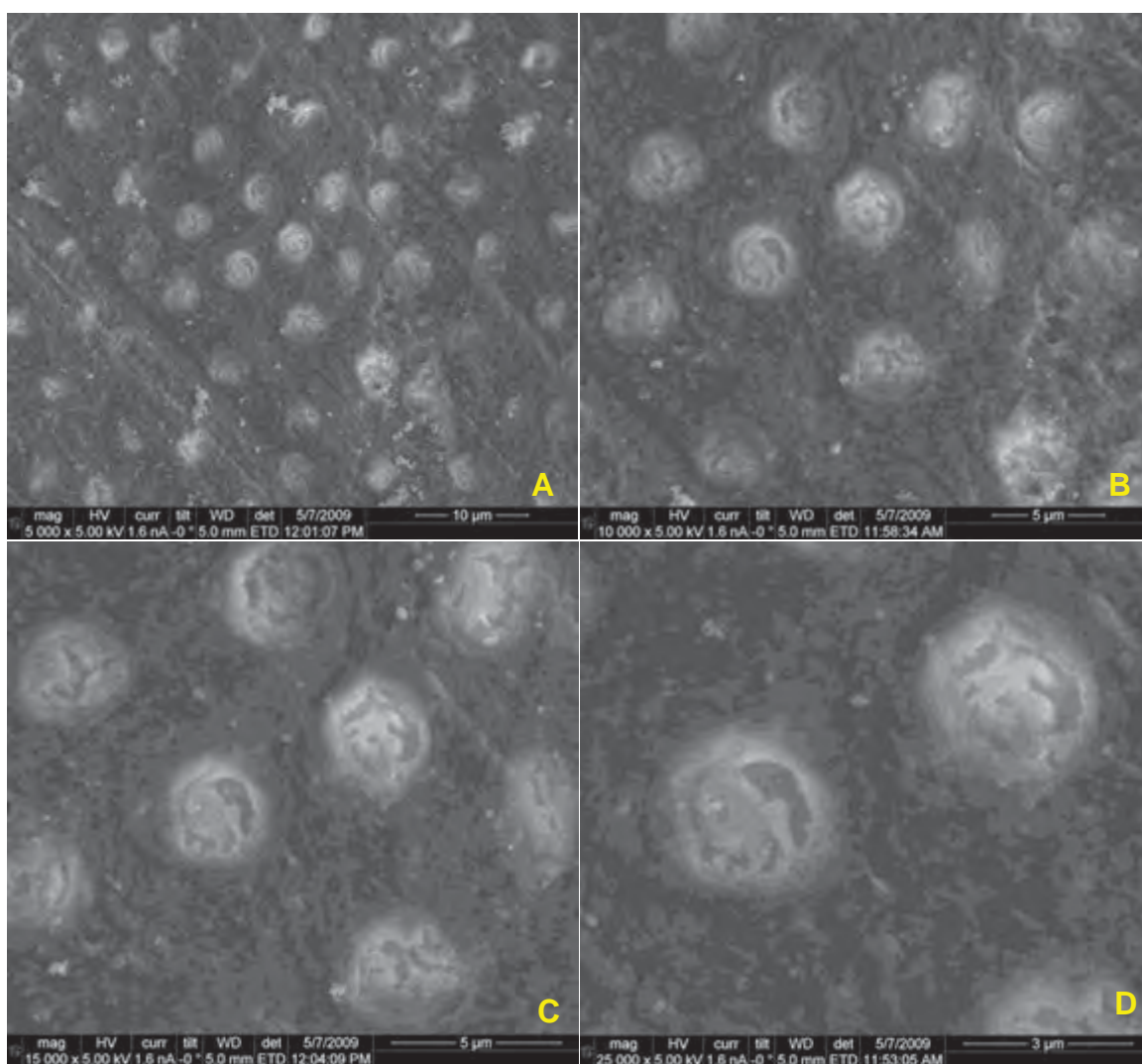


Figura 30 – Fotomicrografia eletrônica de varredura da dentina intacto (sem clareamento) nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

A dentina intacta apresenta-se com túbulos bem definidos, sendo possível visualizar as dentinas peritubular e intertubular. Observa-se também presença de smear layer e smear plug.

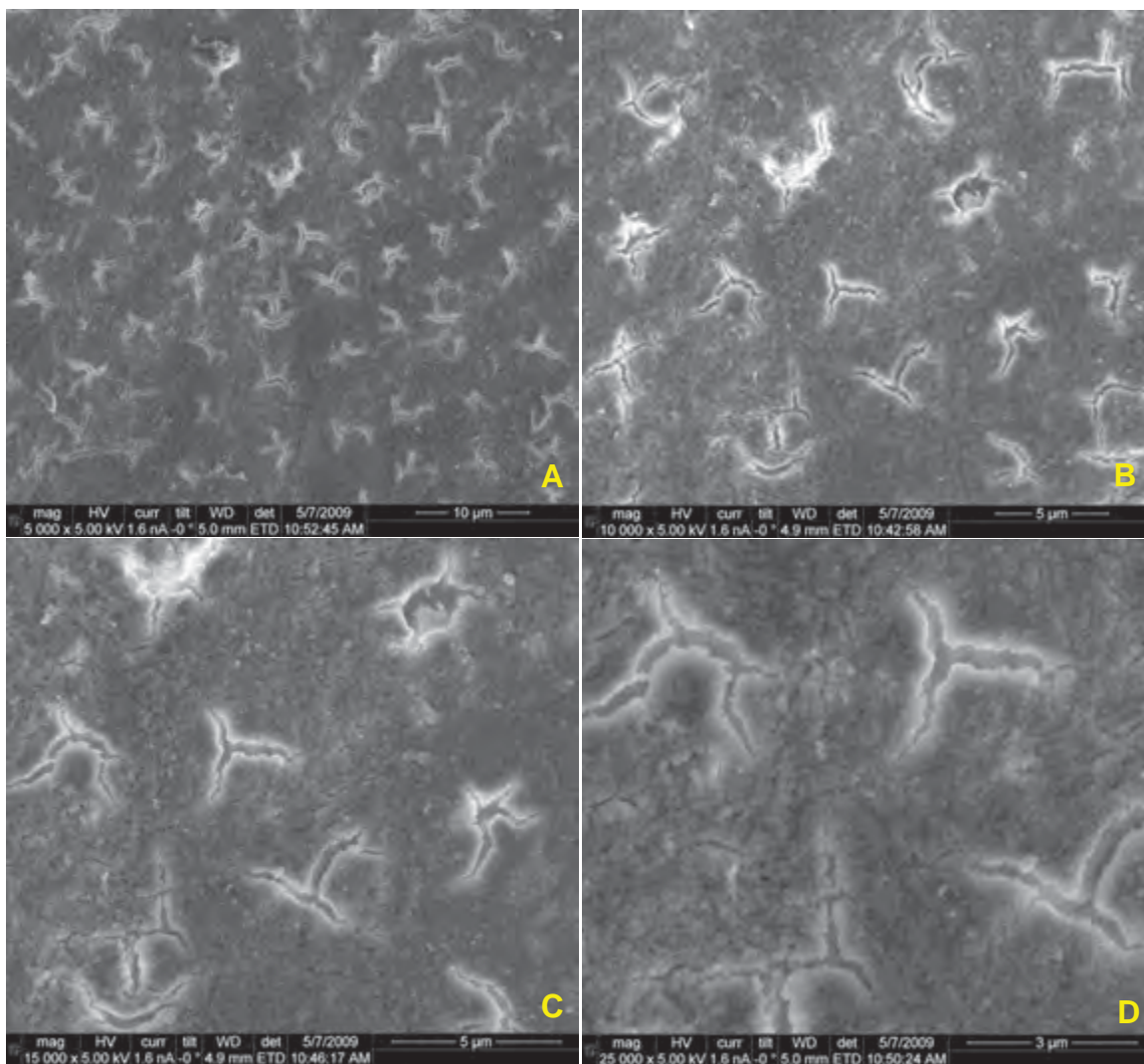


Figura 31 – Fotomicrografia eletrônica de varredura da dentina clareada nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

Após o clareamento, os túbulos dentinários apresentaram-se obliterados pela smear layer (smear plug), não sendo possível observar nitidamente as dentinas peritubular e intertubular. O peróxido de hidrogênio a



38% não promoveu um condicionamento superficial da dentina e nem removeu a smear layer.

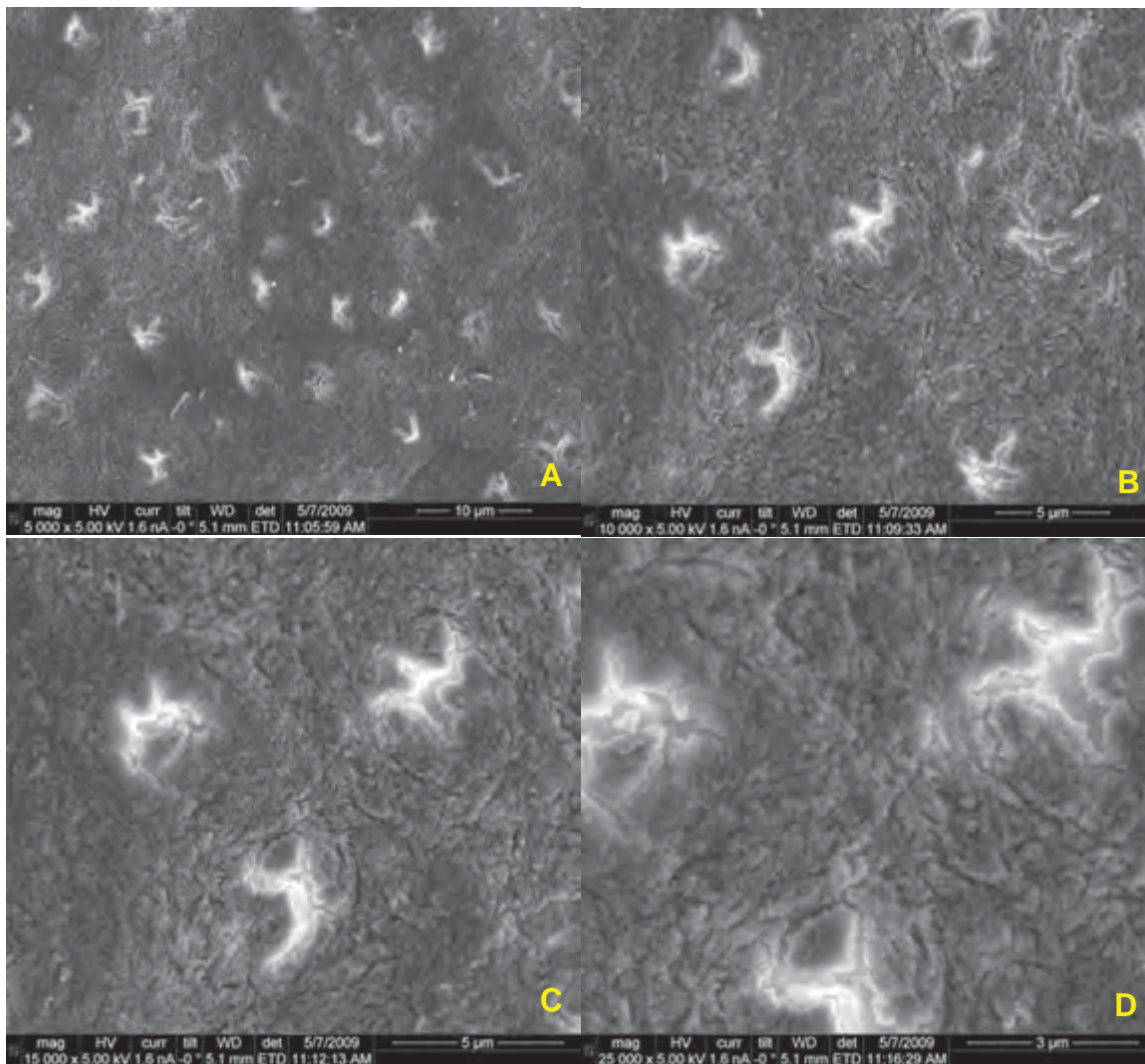


Figura 32 – Fotomicrografia eletrônica de varredura da dentina após o clareamento e aplicação do ascorbato de sódio nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

Os túbulos dentinários mantiveram-se obliterados pela presença de smear plug, mesmo após a aplicação do ascorbato de sódio. A dentina intertubular apresentou-se alterada com exposição de fibras colágenas.

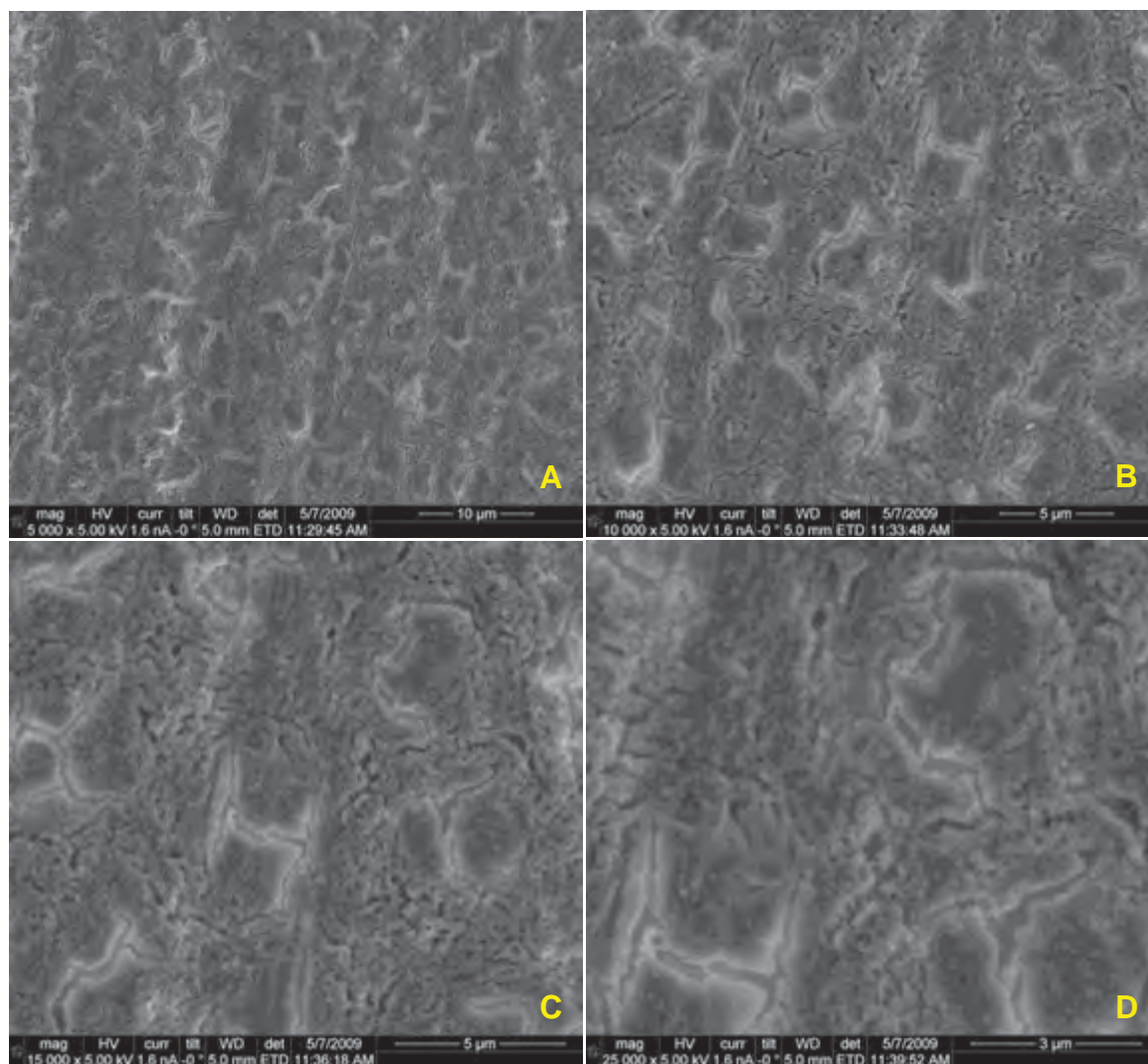


Figura 33 – Fotomicrografia eletrônica de varredura da dentina após o clareamento e aplicação da catalase nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

A catalase alterou a dentina intertubular e expôs algumas fibras colágenas.

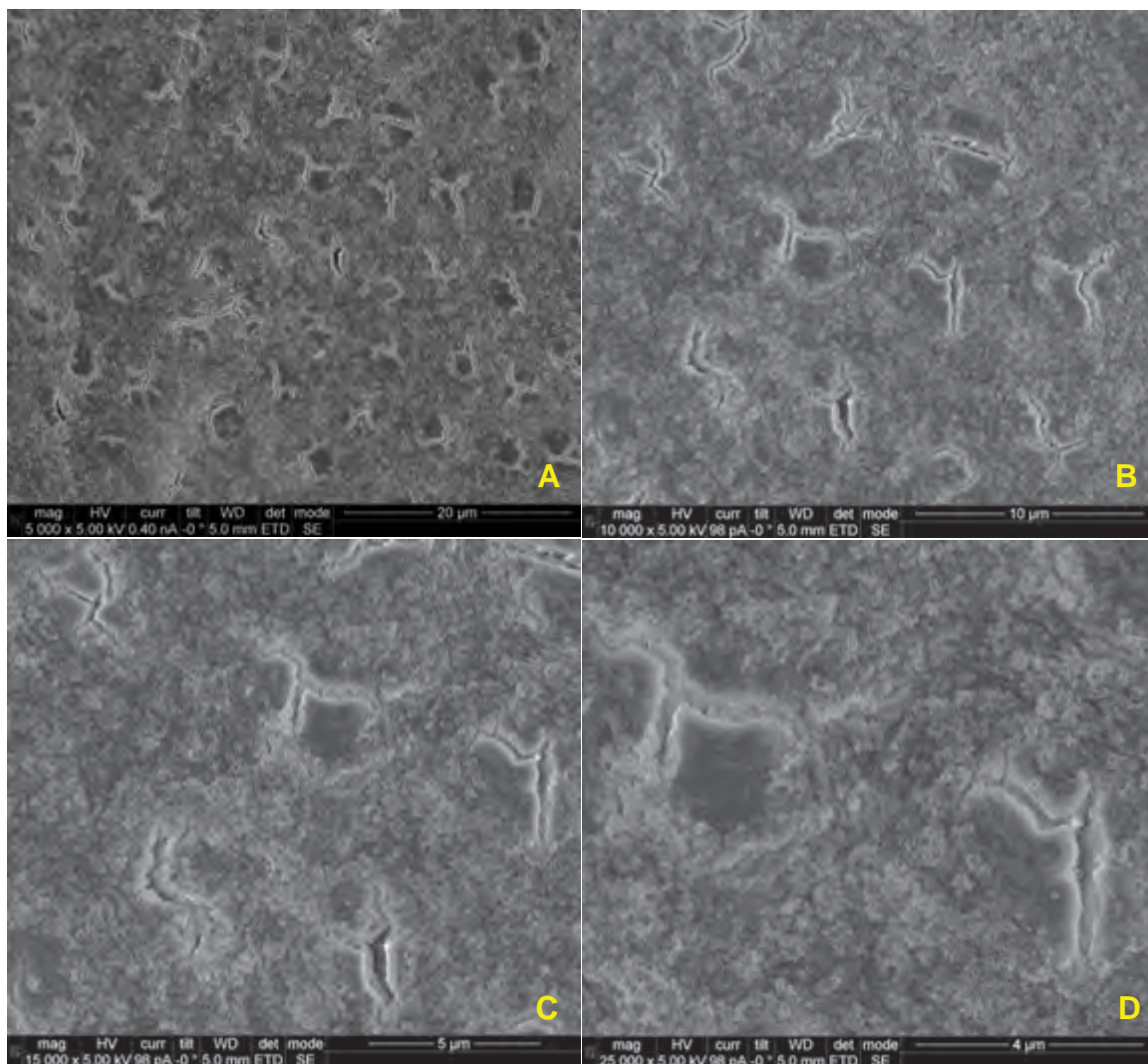


Figura 34 – Fotomicrografia eletrônica de varredura da dentina após o clareamento e aplicação da peroxidase nas magnificações de 5000x (A), 10000x (B), 15000x (C) e 25000x (D).

Após a aplicação da peroxidase, observou-se grande depósito de cristais de sal sobre a smear layer. Os túbulos dentinários apresentaram-se obliterados pela smear plug.

### 5.3 Força de adesão

Os dados obtidos no ensaio de microtração foram analisados de acordo com a força de adesão (MPa) e os tipos de falhas para o esmalte e para dentina.

#### 5.3.1 Esmalte

Os dados de resistência adesiva do esmalte (Tabela 9 no Apêndice C) foram submetidos à estatística descritiva e inferencial, de acordo com os dois momentos de análise da força de adesão (24 horas após o procedimento restaurador e após o envelhecimento).

##### 5.3.1.1 Estatística Descritiva

###### Força de adesão

A estatística descritiva dos valores de força de adesão do esmalte analisada 24 horas após o procedimento restaurador e após o envelhecimento está apresentada nas Tabelas 10 e 11, respectivamente.

Tabela 10 – Estatística descritiva dos valores de resistência adesiva (MPa) do esmalte avaliada após 24 horas do procedimento restaurador, segundo os grupos experimentais

Grupos	n	mediana	média	dp	cv (%)	mín	máx
G1	43	35,5	31,6	26,3	83,3	0,0	82,7
G2	66	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G3	64	43,6	43,2	22,6	52,4	0,0	93,3
G4	40	0,0	2,4	9,7	412,0	0,0	56,4
G5	46	15,6	15,6	15,7	100,4	0,0	47,3
G6	33	0,0	8,7	16,5	191,1	0,0	51,5

Tabela 11 – Estatística descritiva dos valores de resistência adesiva (MPa) do esmalte avaliada após o envelhecimento, segundo os grupos experimentais

Grupos	n	mediana	média	dp	cv (%)	mín	máx
G1	54	26,0	26,9	17,2	64,0	0,0	69,6
G2	40	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G3	77	22,8	25,0	21,0	84,2	0,0	76,3
G4	44	0,0	2,9	7,8	264,4	0,0	34,8
G5	48	0,0	0,2	1,2	692,8	0,0	8,1
G6	45	0,0	2,2	6,7	301,5	0,0	29,0

É possível observar altos valores de coeficiente de variação antes e após o envelhecimento artificial para todos os grupos experimentais, com exceção do G2.

Para efeito de melhor visualização, a estatística descritiva foi representada pelos gráficos de colunas (Figura 35) e Box Plot (Figura 36).

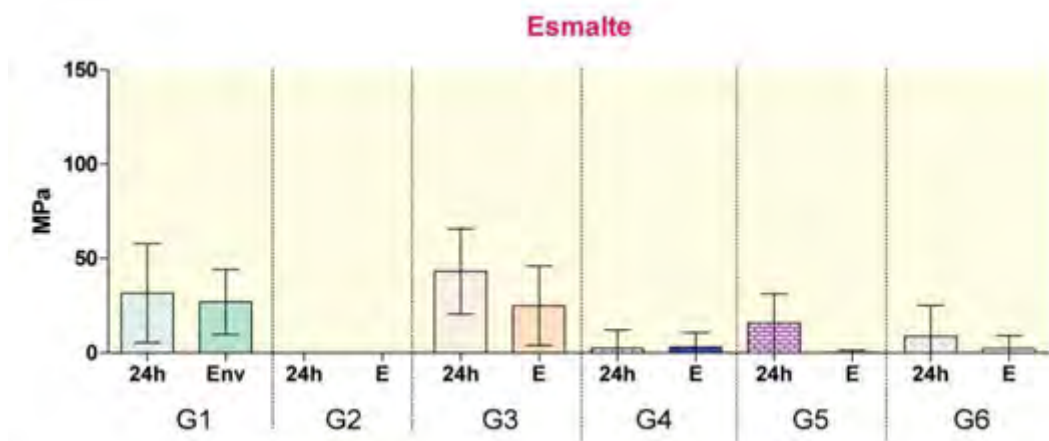


Figura 35 – Gráfico de colunas (média±desvio padrão) dos valores de microtração (MPa) segundo as condições experimentais e momentos da análise da força de adesão ao esmalte (após 24 horas do procedimento restaurador e após o envelhecimento).

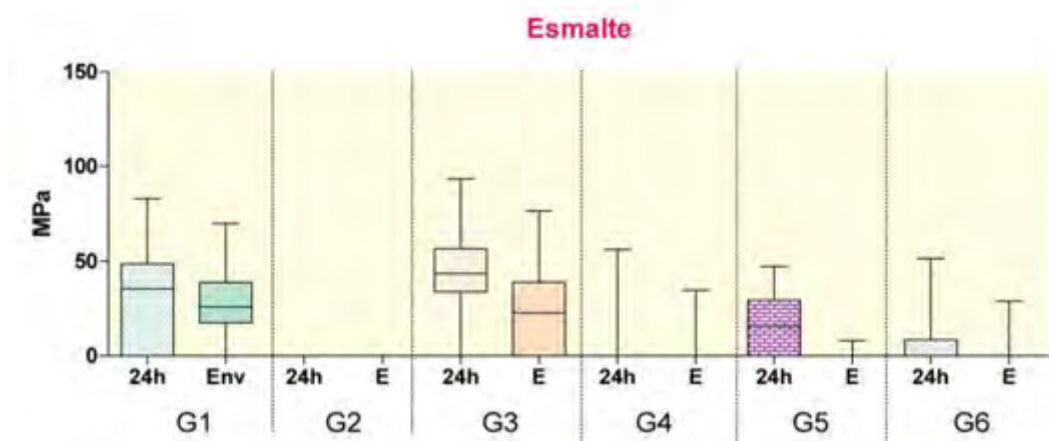


Figura 36 - Esquema dos cinco números (Box Plot) dos valores de microtração (MPa) segundo as condições experimentais e momentos da análise da força de adesão ao esmalte.

Pode-se verificar uma grande diferença em termos de variabilidade (desvio-padrão e faixa interquartil), principalmente para os grupos G1 e G3.

### Tipos de falhas

Com relação aos tipos de falhas observadas após a fratura dos espécimes de esmalte, sua distribuição absoluta (contagem) está representada no Apêndice D de acordo com o grupo experimental e o momento da análise da força de adesão.

A distribuição relativa (%) das falhas em cada grupo após 24h do procedimento restaurador e após o envelhecimento artificial está representada pelas Figuras 37 e 38, respectivamente.

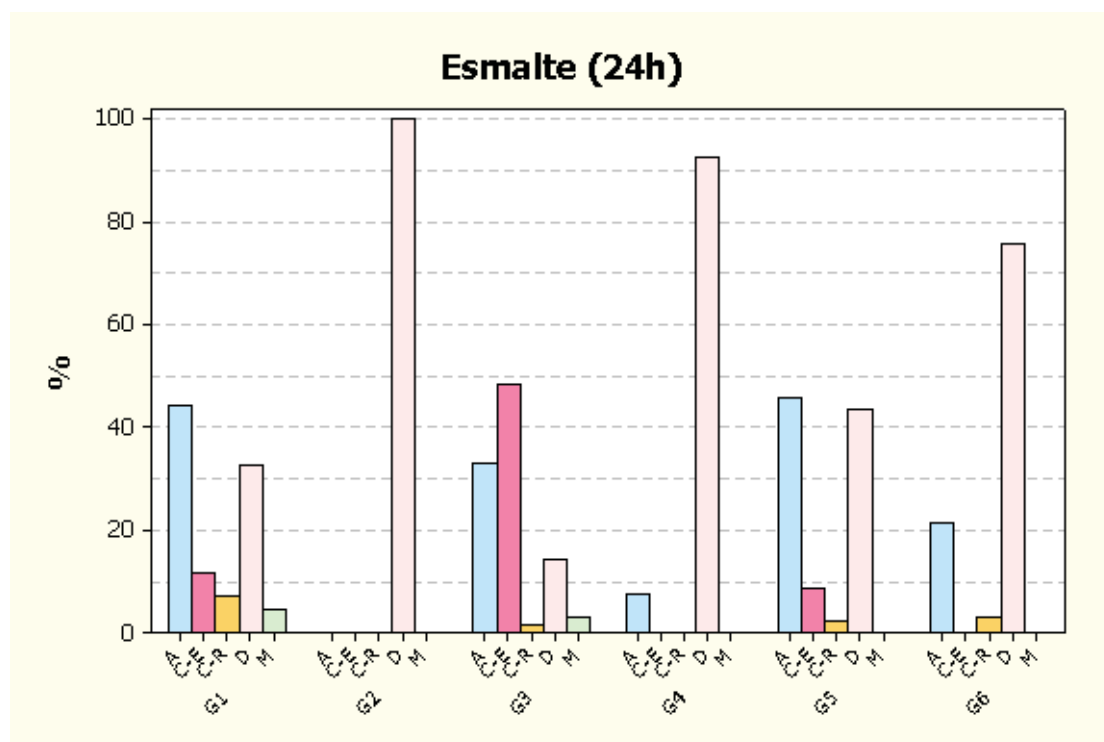


Figura 37 – Distribuição relativa de falhas em cada grupo experimental para análise realizada após 24h do procedimento restaurador (A: falha adesiva, C-E: coesiva no esmalte, C-R: coesiva na resina, D: debonding, M: mista)

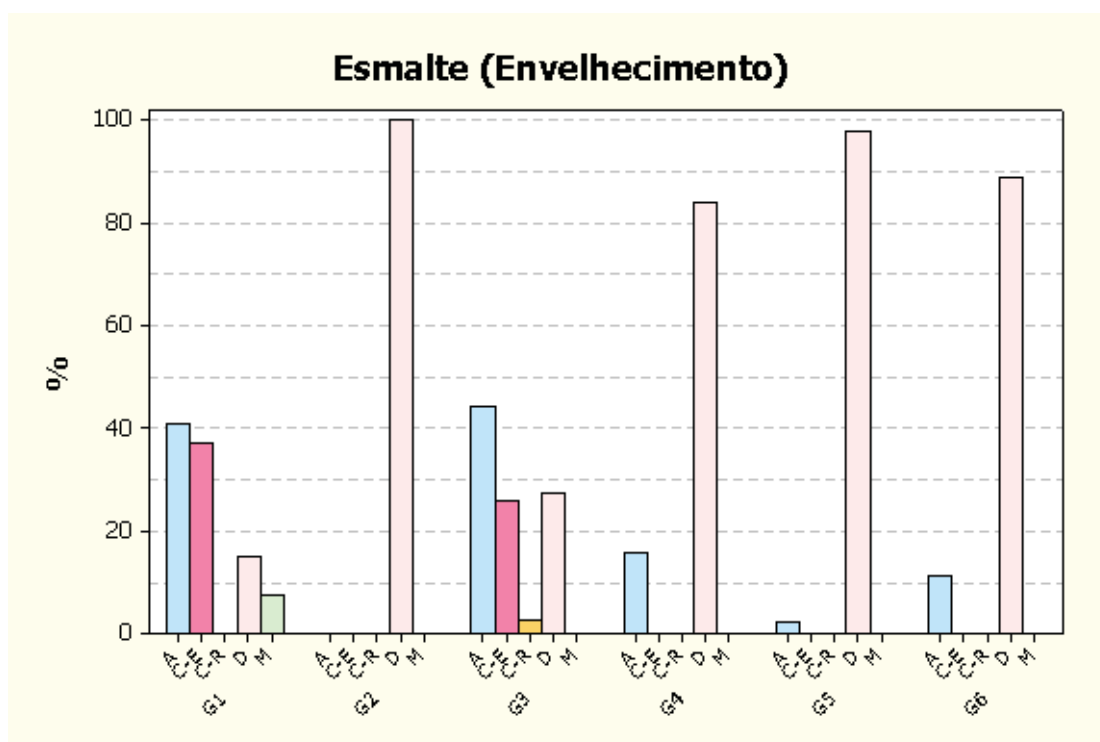


Figura 38 – Distribuição relativa de falhas em cada grupo experimental para análise realizada após o envelhecimento (A: falha adesiva, C-E: coesiva no esmalte, C-R: coesiva na resina, D: debonding, M: mista).

É possível observar que a falha adesiva foi predominante no grupo G1 e o debonding nos grupos G2, G4, G5 e G6, nos dois momentos de análise. As falhas coesiva em esmalte e adesiva foram predominantes no grupo G3 antes e após o envelhecimento, respectivamente.

### 5.3.1.2 Estatística Inferencial

O efeito do clareamento e dos agentes antioxidantes sobre a força de adesão ao esmalte, a curto e a longo prazo, foi avaliado pelo teste



não paramétrico de Kruskal-Wallis. Este teste foi usado porque os dados não apresentaram homogeneidade de variância devido a grande quantidade de valores de resistência adesiva de 0MPa, representada pelos debondings.

Pode-se rejeitar a hipótese de igualdade de mesma distribuição dos valores de força de adesão nas seis condições experimentais após 24h do procedimento restaurador (estatística kw = 144,009; gl = 5; p = 0,00001) e após o envelhecimento (estatística kw = 165,996; gl = 5; p = 0,00001).

Mediante o teste de comparação múltipla de Dunn (5%), quatro grupos homogêneos (denotados pelas letras A, B, C e D) de mesmo desempenho em termos de resistência adesiva do esmalte foram estabelecidos para análise 24 horas após o procedimento restaurador (Tabela 13). A representação gráfica destes dados pode ser visualizada na Figura 39.

Tabela 13 – Formação de grupos homogêneos (de mesmo desempenho) quanto a mediana (MPa) de acordo com os grupos experimentais para análise da resistência adesiva do esmalte 24 horas após o procedimento restaurador, teste de Dunn (5%)

Grupos Experimentais	Mediana 24h	Grupos homogêneos*
G1	35,5	AB
G2	0,0	D
G3	43,6	A
G4	0,0	D
G5	15,6	BC
G6	0,0	CD

\*médias seguidas de letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa

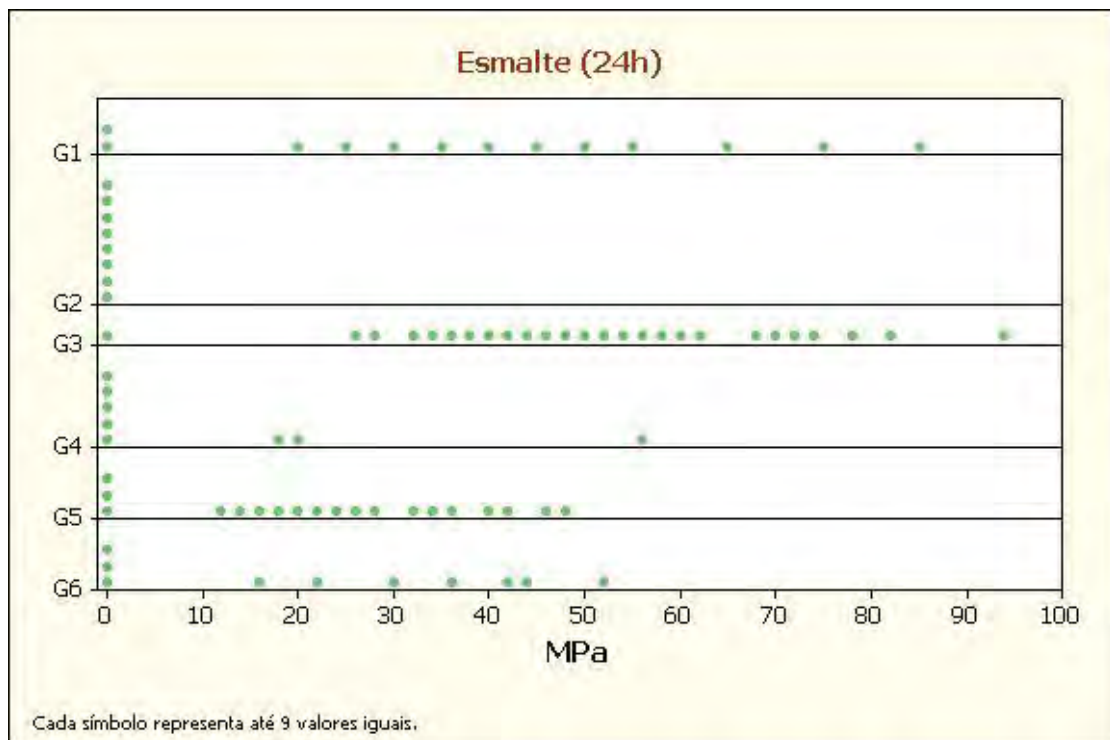


Figura 39 – Gráfico de pontos (Dot Plot) da distribuição de valores da força de adesão ao esmalte para cada grupo experimental após 24 horas do procedimento restaurador.

Para análise 24 horas após o procedimento restaurador, observa-se que a maior força de adesão ao esmalte foi obtida após o clareamento e adesão após 7 dias (G3), sem diferença estatisticamente significativa ao esmalte não clareado (G1). A menor força de adesão ao esmalte foi obtida imediatamente após o clareamento (G2) e aplicação dos agentes antioxidantes, principalmente o ascorbato de sódio (G4) e a peroxidase (G6). A aplicação da catalase imediatamente após o clareamento (G5) promoveu valores intermediários de resistência adesiva ao esmalte, sem diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos G1 e G6.

Para análise após o envelhecimento, dois grupos homogêneos (denotados pelas letras A e B) de mesmo desempenho em termos de resistência adesiva do esmalte foram estabelecidos pelo teste de

Dunn (5%) (Tabela 14). A representação gráfica destes dados pode ser visualizada na Figura 40.

Tabela 14 – Formação de grupos homogêneos (de mesmo desempenho) quanto a mediana (MPa) de acordo com os grupos experimentais para análise da resistência adesiva do esmalte após o envelhecimento, teste Dunn (5%)

Grupos experimentais	Mediana envelhecimento	Grupos homogêneos*
G1	26,0	A
G2	0,0	B
G3	22,8	A
G4	0,0	B
G5	0,0	B
G6	0,0	B

\*médias seguidas de letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa

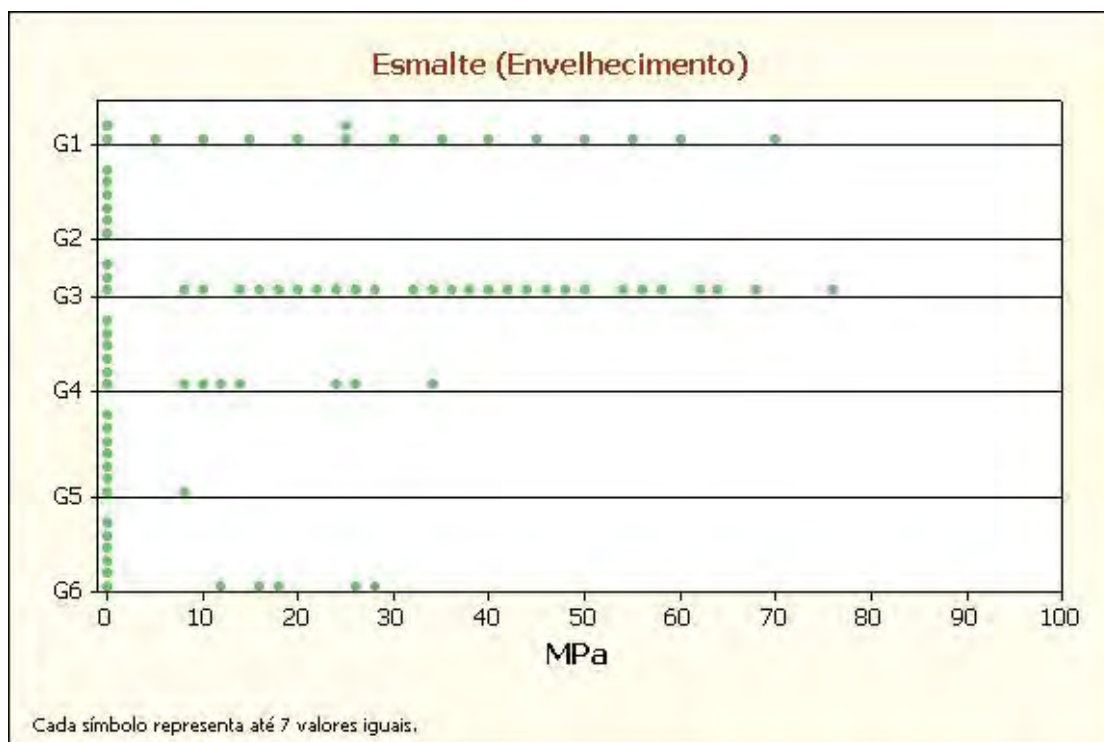


Figura 40 – Gráfico de pontos (Dot Plot) da distribuição de valores da força de adesão ao esmalte para cada grupo experimental após o envelhecimento.

É possível observar que a resistência adesiva ao esmalte após o envelhecimento foi reduzida com o clareamento e aplicação de cada um dos agentes antioxidantes. A resistência do esmalte sem clareamento (G1) foi a mesma da clareada e restaurada 7 dias após (G3).

Com o intuito de comparar a força de adesão ao esmalte antes e após o envelhecimento, foi efetuado o teste Mann-Whitney (5%).

Verificou-se que em alguns grupos experimentais, os valores medianos apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação aos dois momentos de análise. A resistência adesiva ao esmalte clareado e restaurado após 7 dias (G3) foi reduzida ( $p=0,00001$ ) com o envelhecimento (24h= 43,6 MPa; Envelhecimento= 22,8 MPa). O mesmo resultado foi observado para o grupo G5 ( $p=0,00001$ ). O envelhecimento diminuiu a adesão ao esmalte quando o agente antioxidante catalase foi aplicado

imediatamente após o clareamento (24 horas= 15,6 MPa; Envelhecimento = 0,0 MPa).

Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,3405$ ) na resistência adesiva do esmalte não clareado (G1) com o tempo (24 horas= 35,5 MPa; Envelhecimento= 26,0 MPa). O envelhecimento não reduziu a força de adesão ao esmalte.

Da mesma forma, a força de adesão ao esmalte não foi alterada com o envelhecimento para os grupos G2 (sem variabilidade, todos os valores iguais a zero), G4 ( $p=0,2719$ ) e G6 ( $p=0,0810$ ).

### 5.3.2 Dentina

Os dados de resistência adesiva da dentina (Tabela 15 no Apêndice E) foram submetidos à estatística descritiva e inferencial, de acordo com os dois momentos de análise da força de adesão (24 horas após o procedimento restaurador e após o envelhecimento).

#### 5.3.2.1 Estatística Descritiva

##### Força de adesão

A estatística descritiva dos valores de força de adesão da dentina analisada após 24 horas do procedimento restaurador e após o envelhecimento está apresentada nas Tabelas 16 e 17, respectivamente.

Tabela 16 – Estatística descritiva dos valores de resistência adesiva (MPa) da dentina avaliada após 24 horas do procedimento restaurador, segundo as condições experimentais

Grupos	n	mediana	média	dp	cv (%)	mín	máx
G7	40	79,3	79,9	18,7	23,4	39,1	120,9
G8	43	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G9	61	68,4	63,7	27,2	42,8	0,0	131,8
G10	64	0,0	2,8	8,0	284,5	0,0	34,9
G11	48	0,0	1,1	4,4	399,9	0,0	22,5
G12	43	0,0	1,9	6,2	321,5	0,0	26,1

Tabela 17 – Estatística descritiva dos valores de resistência adesiva (MPa) da dentina avaliada após o envelhecimento, segundo as condições experimentais

Grupos	n	mediana	média	dp	cv (%)	mín	máx
G7	48	70,1	65,5	29,7	45,4	0,0	112,8
G8	40	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G9	39	55,7	51,0	27,8	54,5	0,0	96,6
G10	44	0,0	1,5	7,2	479,7	0,0	41,8
G11	54	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
G12	44	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Para efeito de melhor visualização, a estatística descritiva foi representada pelos gráficos de colunas (Figura 41) e Box Plot (Figura 42).

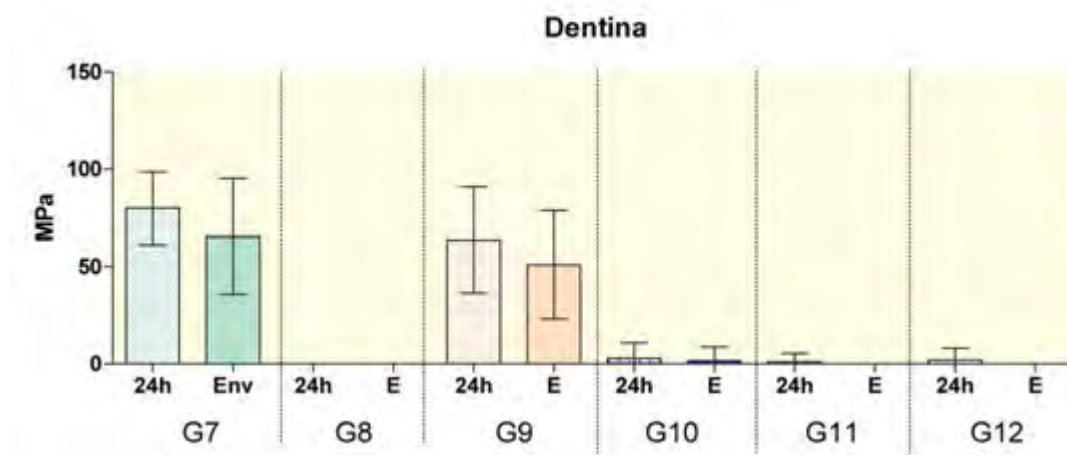


Figura 41 – Gráfico de colunas (média±desvio padrão) dos valores de microtração (MPa) segundo as condições experimentais e momentos da análise da força de adesão à dentina (após 24 horas do procedimento restaurador e após o envelhecimento).

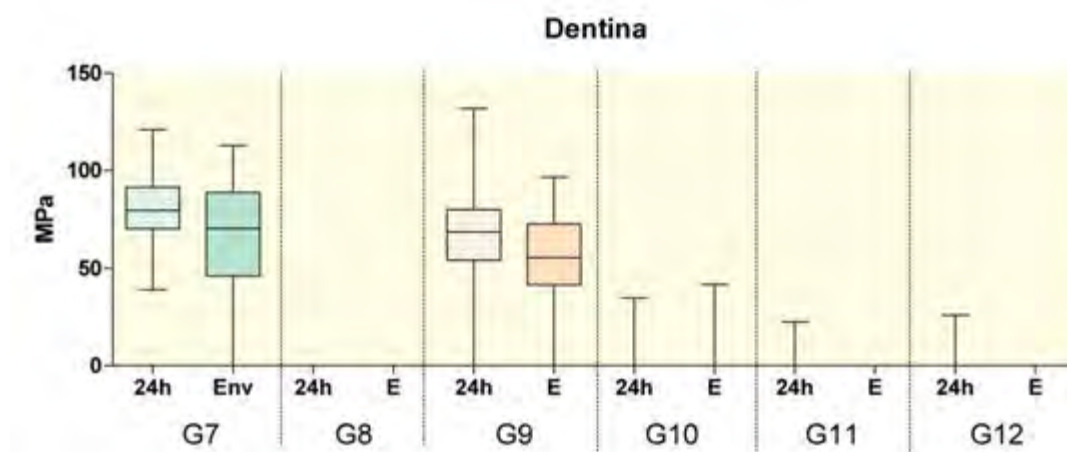


Figura 42 - Esquema dos cinco números (Box Plot) dos valores de microtração (MPa) segundo as condições experimentais e momentos da análise da força de adesão à dentina.

Pode-se observar uma diferença em termos de variabilidade (desvio-padrão e faixa interquartil) dos grupos G7 e G9 em relação aos demais.

### Tipos de falhas

Com relação aos tipos de falhas observadas após a fratura dos espécimes de dentina, sua distribuição absoluta (contagem) está representada no Apêndice F de acordo com o grupo experimental e o momento da análise da força de adesão.

A distribuição relativa (%) das falhas em cada grupo após 24h do procedimento restaurador e após o envelhecimento artificial está representada pelas Figuras 43 e 44, respectivamente.

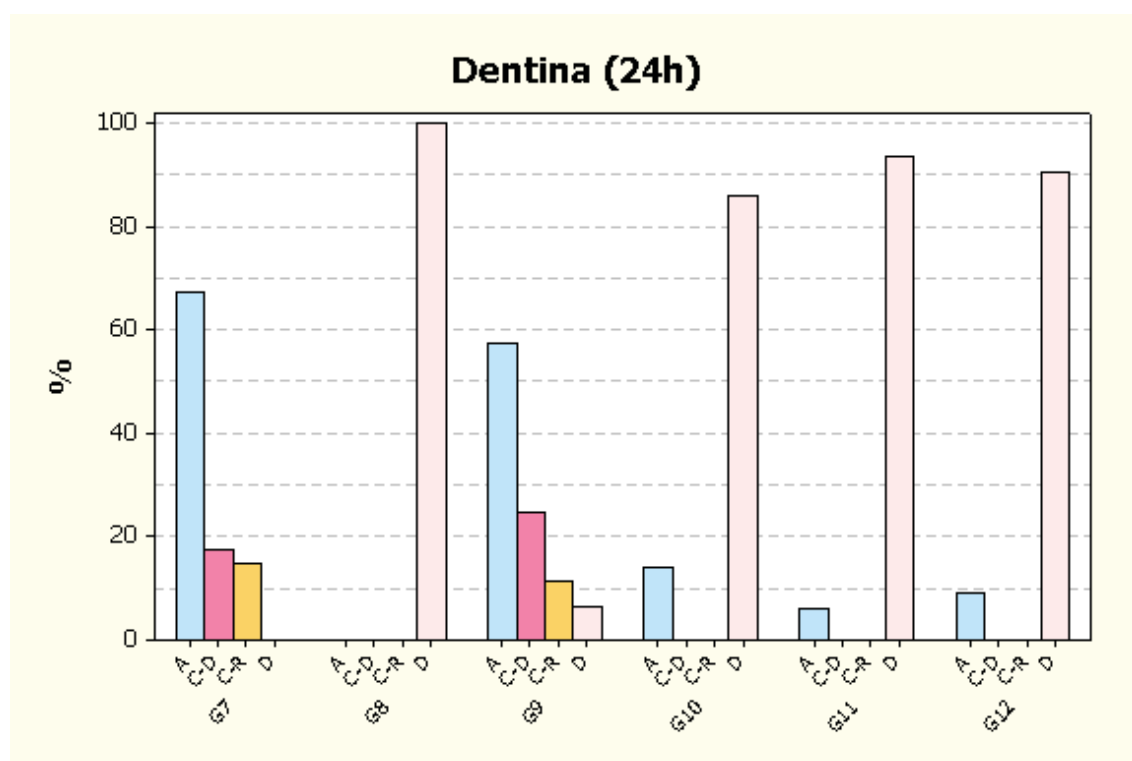


Figura 43 – Distribuição relativa de falhas em cada grupo experimental para análise realizada após 24 horas do procedimento restaurador (A: falha adesiva, C-D: coesiva na dentina, C-R: coesiva na resina, D: debonding)



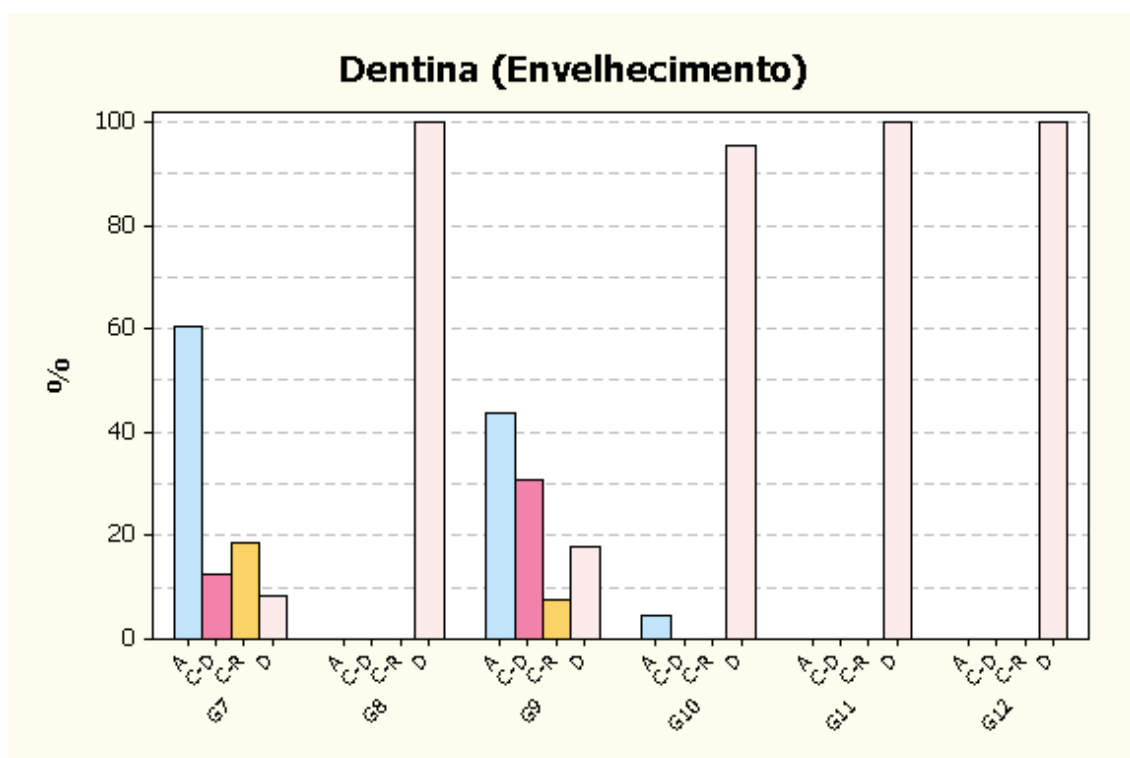


Figura 44 – Distribuição relativa de falhas em cada grupo experimental para análise realizada após o envelhecimento (A: falha adesiva, C-D: coesiva na dentina, C-R: coesiva na resina, D: debonding).

.

É possível observar que a falha adesiva foi predominante nos grupos G7 e G9 e o debonding nos demais grupos nos dois momentos de análise.

### 5.3.2.2 Estatística Inferencial

O efeito do clareamento e dos agentes antioxidantes sobre a força de adesão à dentina, a curto e a longo prazo, foi avaliado pelo teste

não paramétrico de Kruskal-Wallis. Este teste foi usado porque os dados não apresentaram homogeneidade de variância devido a grande quantidade de valores de resistência adesiva de 0MPa, representada pelos debondings.

Pode-se rejeitar a hipótese de igualdade de mesma distribuição dos valores de força de adesão nas seis condições experimentais após 24 horas do procedimento restaurador (estatística kw= 244,452; gl= 5; p= 0,00001) e após o envelhecimento (estatística kw= 210,729; gl= 5; p= 0,00001).

Mediante o teste de comparação múltipla de Dunn (5%), usado nos dois momentos de análise separadamente, dois grupos homogêneos (denotados pelas letras A e B) de mesmo desempenho em termos de resistência adesiva da dentina foram estabelecidos (Tabela 19). A representação gráfica destes dados pode ser visualizada nas Figuras 45 e 46.

Tabela 19 – Formação de grupos homogêneos (de mesmo desempenho) quanto a mediana (MPa) de acordo com o grupo experimental e o momento da análise da resistência adesiva da dentina, teste Dunn (5%)

Grupos experimentais	24h	Envelhecimento	Grupos homogêneos*
G7	79,3	70,1	A
G8	0,0	0,0	B
G9	68,4	55,7	A
G10	0,0	0,0	B
G11	0,0	0,0	B
G12	0,0	0,0	B

\*médias seguidas de letras diferentes indicam diferença estatisticamente significante

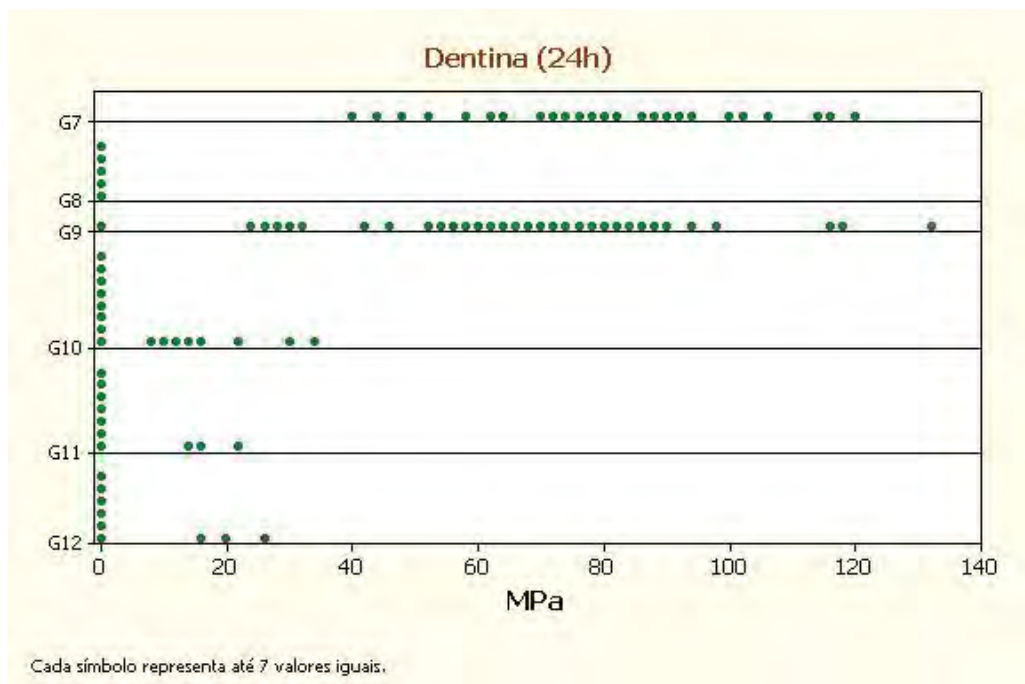


Figura 45 – Gráfico de pontos (Dot Plot) da distribuição de valores da força de adesão à dentina para cada grupo experimental após 24h do procedimento restaurador.

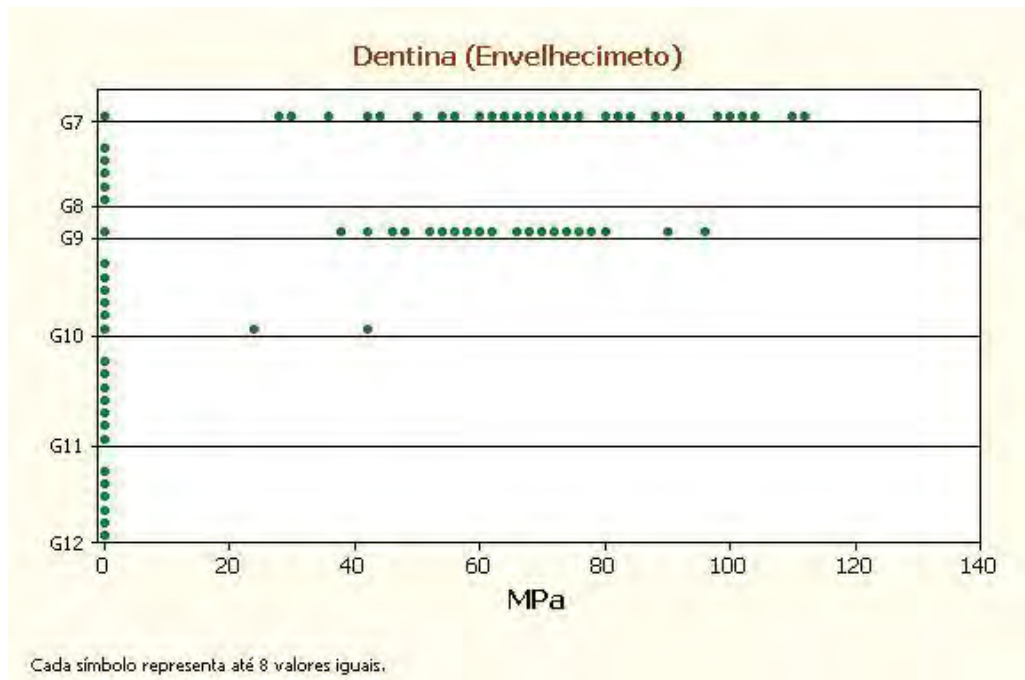


Figura 46 – Gráfico de pontos (Dot Plot) da distribuição de valores da força de adesão à dentina para cada grupo experimental após o envelhecimento.

Foi possível observar que a resistência adesiva à dentina foi reduzida após o clareamento e aplicação de cada um dos agentes antioxidantes antes e após o envelhecimento. A resistência da dentina sem clareamento (G7) foi a mesma da clareada e restaurada 7 dias após (G9).

Com o intuito de comparar a força de adesão à dentina antes e após o envelhecimento para os grupos G7 e G9, foi efetuado o teste Mann-Whitney (5%).

Houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0329$ ) na resistência adesiva da dentina não clareada (G7) com o tempo (24 horas= 79,3 MPa; Envelhecimento= 70,1 MPa). O envelhecimento diminuiu a força de adesão à dentina. Da mesma forma, foi observado que a resistência adesiva à dentina clareada e restaurada após 7 dias (G9) foi reduzida ( $p=0,0250$ ) com o envelhecimento (24 horas= 68,4 MPa; Envelhecimento= 55,7 MPa).

Para os grupos G8, G10, G11 e G12 não houve variabilidade nos valores medianos (0 MPa) antes e após o envelhecimento. Dessa forma, a força de adesão não foi alterada nos dois momentos de análise.

## 6 DISCUSSÃO

O peróxido de hidrogênio é um dos agentes clareadores mais efetivos utilizados em consultório odontológico. Sua ação clareadora se deve ao seu efeito oxidante e liberação de radicais livres, moléculas reativas de oxigênio e anions hidroxila (Markovic et al., 2007; Unlu et al., 2008) através de uma reação química. Por apresentar um baixo peso molecular, o peróxido de hidrogênio é capaz de difundir-se através da matriz orgânica do esmalte e da dentina, oxidando as substâncias orgânicas poliméricas pigmentadas (cromógenos) (Abouassi et al., 2010). Os radicais livres quebram as ligações duplas dos cromógenos transformando-os em moléculas menores e incolores (Ito, Momoi, 2011; Sasaki et al., 2009), com liberação de dióxido de carbono e água (Miranda et al., 2005). Esta oxidação além de alterar a cor e a estrutura química dos cromógenos, promove conseqüentemente, a descoloração do dente (Hegedüs et al., 1999).

Apesar do peróxido de hidrogênio promover um bom resultado estético, alguns efeitos adversos podem ser observados na estruturas dentárias, já que a sua ação oxidante não é seletiva (Dutra et al., 2009). O peróxido de hidrogênio não age especificamente apenas nos cromógenos, podendo afetar também a matriz orgânica das estruturas dentárias e causar alterações na sua rugosidade, morfologia e força de adesão.

Com o intuito de restabelecer a resistência adesiva à estrutura dental imediatamente após o clareamento, a utilização de agentes antioxidantes tem sido recomendada. Estes agentes retardam ou inibem a oxidação do substrato e podem agir em diferentes níveis da seqüência oxidativa. Além disso, podem ser classificados de acordo com seu

mecanismo de ação, estrutura química e função biológica. Agentes enzimáticos como a catalase e a peroxidase e agentes não enzimáticos como o ascorbato de sódio podem afetar o esmalte e a dentina devido a sua ação neutralizadora.

Os resultados deste estudo serão discutidos em três etapas em relação aos efeitos do peróxido de hidrogênio a 38% e dos agentes antioxidantes testados sobre (1) a rugosidade superficial, (2) morfologia e (3) força de adesão do esmalte e da dentina.

## **6.1 Rugosidade superficial**

A rugosidade superficial do esmalte não foi alterada após a aplicação do peróxido de hidrogênio a 38% e dos agentes antioxidantes ascorbato de sódio e catalase. Entretanto, a peroxidase aumentou a rugosidade superficial do esmalte clareado.

O clareamento com peróxido de hidrogênio a 38% e a aplicação dos agentes antioxidantes aumentaram significativamente a rugosidade superficial da dentina. Assim, a primeira hipótese nula deste estudo foi rejeitada tanto para o esmalte quanto para a dentina.

### **6.1.1 Esmalte**

No presente estudo, o agente clareador utilizado foi o peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost) que é um dos produtos com maior concentração e efeito oxidante disponível no mercado. Apesar

disso, o esmalte clareado apresentou a mesma rugosidade superficial do esmalte intacto. A rugosidade do esmalte manteve-se inalterada após o clareamento devido a composição do agente clareador e seu pH neutro. Diferentemente da maioria dos agentes clareadores, o pH do Opalescence Boost é 7,0, bem acima do pH crítico do esmalte (pH 5,5). Dessa forma, o clareamento não promoveu desmineralização do esmalte e alteração de sua rugosidade superficial. Este resultado está de acordo com Cadenaro et al. (2008) que avaliaram a rugosidade do esmalte *in vivo* usando o mesmo agente clareador. Além disso, o agente clareador utilizado possui nitrato de potássio a 3% e flúor a 1,1% em sua composição, que auxiliam no processo de remineralização do esmalte, aumentam a sua dureza, reduzem a susceptibilidade à cárie e o risco de sensibilidade. A ausência de efeitos deletérios do clareamento sobre a rugosidade do esmalte pode ser atribuída também ao efeito protetor do flúor. Agentes clareadores fluoretados produzem uma menor desmineralização do esmalte do que os agentes não fluoretados (Chen et al., 2008). A incorporação de flúor ao agente clareador contendo peróxido de hidrogênio auxilia no processo de remineralização do dente, devido ao depósito de cristais de hidroxiapatita fluoretada e fluoreto de cálcio sobre a superfície do esmalte (Tanizawa, 2005).

Embora nenhuma alteração tenha sido observada na rugosidade do esmalte após o clareamento, alguns autores (Abouassi et al., 2010; Dutra et al., 2009; Hosoya et al., 2003; Martin et al., 2010; Pinto et al., 2011) têm relatado que o esmalte clareado apresenta-se mais rugoso. Esta diferença nos resultados se deve à metodologia empregada em cada estudo com relação às características do tratamento clareador, tipo de análise (*in vivo* ou *in vitro*), tipo de substrato (esmalte humano ou bovino) e sua preparação (intacto ou polido) (Cadenaro et al., 2008; Mielczarek et al., 2008).

Os efeitos do peróxido de hidrogênio sobre o esmalte dependem de sua concentração, pH, tempo de exposição, frequência e composição (Abouassi et al., 2010; Martin et al., 2010). Agentes clareadores com alta concentração de peróxido de hidrogênio e baixo pH podem causar alterações superficiais no esmalte como descalcificação e erosão (Abouassi et al., 2010; Cadenaro et al., 2008; Dutra et al., 2009; Götz et al., 2007; Ito, Momoi, 2011; Mielczarek et al., 2008). O pH ácido do agente clareador é capaz de promover uma maior rugosidade ao esmalte do que o clareamento com alta concentração de peróxido (Azrak et al., 2010). Além disso, a aplicação do agente clareador por um tempo prolongado ou sessões consecutivas de clareamento em um curto período de tempo pode alterar a rugosidade, morfologia e composição do esmalte (Lima et al., 2010; Souza et al., 2010).

Os procedimentos de acabamento e polimento também podem alterar a rugosidade do esmalte e influenciar o processo de desmineralização porque expõem uma camada mais uniformemente mineralizada do que o esmalte superficial (Ruse et al., 1990). Na presente investigação científica, a superfície do esmalte foi mantida intacta, sem nenhum tipo de polimento ou tratamento, com o objetivo de preservar as características inerentes do esmalte superficial e obter resultados mais realísticos (Cobankara et al., 2004).

O uso de agentes antioxidantes imediatamente após o clareamento tem sido recomendado para restabelecer a força de adesão à estrutura dental. Entretanto, seu efeito sobre a rugosidade superficial do esmalte é desconhecido. Foi observado no presente estudo que apenas a aplicação do agente antioxidante peroxidase foi capaz de aumentar a rugosidade do esmalte após o clareamento. Este aumento na rugosidade superficial se deve à oxidação do peróxido de hidrogênio causada pela peroxidase na tentativa de acelerar a eliminação do oxigênio reativo presente



após o clareamento. A peroxidase promove a liberação de dois átomos de oxigênio da mesma molécula  $H_2O_2$ , sem quebrar a união O-O (Becerra, 2004).

As imagens de MFA comprovaram que não houve alteração da superfície do esmalte após a aplicação do peróxido de hidrogênio e dos agentes antioxidantes, com exceção da peroxidase. Além disso, não foi possível observar os prismas de esmalte em nenhuma das imagens obtidas. Os prismas estão localizados de 5 a 100  $\mu m$  de distância do esmalte superficial (Hegedüs et al., 1999). Como nenhum desgaste foi realizado no esmalte para análise da rugosidade e os dentes usados neste estudo foram incisivos humanos que não estão sujeitos a alta incidência mastigatória, os prismas não foram expostos, o que justifica a sua ausência nas imagens de microscopia.

A análise da rugosidade superficial foi realizada com o microscópio de força atômica por ser o único equipamento capaz de fornecer tanto dados quantitativos, como valores de rugosidade superficial, quanto dados qualitativos, como a imagem da superfície em duas e três dimensões (Silikas et al., 1999). Este microscópio possui as seguintes vantagens em relação ao rugosímetro e ao microscópio eletrônico de varredura: alta precisão e sensibilidade, resolução atômica (Chng et al., 2005), imagem em terceira dimensão, ausência de artefatos, possibilidade de atuar em meio líquido e no ar (Chng et al., 2005; Hegedüs et al., 1999) e análise do mesmo espécime após diferentes tratamentos (Batista et al., 2007). As imagens de MFA representam mais as condições naturais do substrato do que o microscópio eletrônico de varredura porque requer pouco preparo do espécime (Hegedüs et al., 1999). Dessa forma, o microscópio de força atômica é um equipamento apropriado para análise da rugosidade superficial do esmalte e da dentina.

### 6.1.2 Dentina

Apesar do agente clareador usado ter pH neutro, sua alta concentração pode ter causado oxidação dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina (Faraoni-Romano et al., 2008) e conseqüentemente aumentado a sua rugosidade. A dentina apresenta uma maior permeabilidade que o esmalte, o que facilita a difusão do peróxido de hidrogênio e quebra da matriz orgânica (Dutra et al., 2009). Além disso, a dentina é menos mineralizada que o esmalte, o que facilita a sua solubilização (Faraoni-Romano et al., 2008).

Pelas imagens de microscopia de força atômica foi possível observar que o clareamento promoveu maior exposição das dentinas peritubular e intertubular, resultando numa maior rugosidade superficial. Estes resultados estão de acordo com Chng et al. (2005) que verificaram que tanto a dentina peritubular quanto a intertubular foram afetadas pelo peróxido de hidrogênio.

Poucas foram as pesquisas (Basting et al., 2007; Cobankara et al., 2004; Faraoni-Romano et al., 2008; Mahmoud et al., 2010) que retrataram o efeito do clareamento sobre a rugosidade dentinária, sendo que a maioria delas (Basting et al., 2007; Cobankara et al., 2004; Faraoni-Romano et al., 2008) utilizou o peróxido de carbamida como agente clareador.

Faraoni-Romano et al. (2008) não verificaram alteração na rugosidade da dentina após o clareamento. Apesar do agente clareador ser o mesmo usado no presente estudo, seu modo de aplicação foi diferente o que justifica a diferença nos resultados obtidos. A duração da aplicação do peróxido foi menor (15 minutos) num maior intervalo de tempo (1 aplicação

por semana, num total de 3 semanas). Entre cada sessão de clareamento a dentina foi mantida em saliva artificial. Dessa forma, a saliva teve tempo suficiente de remineralizar a dentina e manter a sua rugosidade superficial inalterada.

Todos os agentes antioxidantes aumentaram significativamente a rugosidade da dentina, principalmente o ascorbato de sódio. A presença de cristais de sódio e a exposição de fibras colágenas na dentina intertubular justificam o aumento da rugosidade superficial após a aplicação deste agente antioxidante (Vongphan et al., 2005).

A catalase foi o único agente capaz de reduzir a rugosidade da dentina clareada, porém esta apresentou-se ainda mais rugosa que a dentina intacta. A peroxidase promoveu uma rugosidade intermediária na dentina semelhante àquela provocada pelo peróxido de hidrogênio.

## **6.2 Morfologia superficial**

O peróxido de hidrogênio a 38% e os agentes antioxidantes alteraram a morfologia superficial do esmalte e da dentina, desta forma a segunda hipótese nula do presente estudo foi rejeitada.

### **6.2.1 Esmalte**

Leve descalcificação dos prismas de esmalte e exposição de cristais de hidroxiapatita foram causadas pelo efeito oxidante do peróxido de hidrogênio utilizado em alta concentração (38%). Quatro aplicações de

peróxido de hidrogênio a 38% por 15min cada, não foram capazes de promover um condicionamento superficial do esmalte como é comum de ser observado quando agentes clareadores com pH ácido são utilizados. O pH do agente clareador não afetou a morfologia do esmalte, por se tratar de um pH neutro.

Estes resultados estão de acordo com outras pesquisas (Cobankara et al., 2004; Ernst et al., 1996; Sulieman et al., 2004) que verificaram que o clareamento pode causar leve alteração no esmalte dental humano. A pequena erosão do esmalte é reversível e similar àquela obtida com a ingestão de alimentos ácidos por cerca de 2 minutos (Ernst et al., 1996; Lee et al., 2006).

Muitos estudos têm demonstrado que o clareamento com peróxido de hidrogênio promove alterações estruturais no esmalte caracterizadas por depressões superficiais (Hegedüs et al., 1999; Miranda et al., 2005; Pinto et al., 2004), maior porosidade (Miranda et al., 2005; Titley et al., 1988; Yang et al., 2009), exposição dos prismas de esmalte (Miranda et al., 2005), aumento da rugosidade superficial (Pinto et al., 2004), diminuição da dureza e perda de conteúdo mineral (Ferreira et al., 2010; Rotstein et al., 1996). Estas alterações ocorrem devido à desmineralização do esmalte e podem facilitar o acúmulo de placa bacteriana (Hegedüs et al., 1999; Hosoya et al., 2003).

Os efeitos adversos do clareamento sobre a morfologia do esmalte são dependentes da concentração do peróxido de hidrogênio usado, seu pH e tempo de exposição (Ushigome et al., 2009). O clareamento com peróxido de hidrogênio em alta concentração e por tempo prolongado reduz a quantidade de cálcio, fósforo e magnésio no esmalte clareado (Lee et al., 2006), aumenta a sua porosidade e promove a formação de um precipitado sobre a sua superfície (Titley et al., 1988). O aumento da porosidade ocorre devido à liberação de oxigênio na estrutura interna do esmalte (Hegedüs et

al., 1999). O peróxido de hidrogênio penetra facilmente nos componentes orgânicos do esmalte, desnaturando principalmente as suas proteínas e aumentando a sua permeabilidade (Souza et al., 2010). A capacidade de penetração do agente clareador nos cristais de hidroxiapatita é muito baixa porque a fase inorgânica do esmalte é muito mais compacta e mineralizada (Hegedüs et al., 1999).

Métodos para reduzir as alterações superficiais no esmalte antes e após o clareamento têm sido avaliados. A adição de bicarbonato de sódio ao peróxido de hidrogênio com o intuito de aumentar o seu pH pode reduzir a erosão do esmalte clareado e conseqüentemente promover uma menor rugosidade superficial (Prasansuttiorn et al., 2011). A aplicação tópica de flúor neutro (Martin et al., 2010) e o polimento superficial são recomendados após o clareamento (Pinto et al., 2004). Agentes clareadores fluoretados podem promover uma menor erosão no esmalte e reduzir a alteração na sua dureza sem comprometer a eficiência do clareamento (Chen et al., 2008). A própria saliva é capaz de remineralizar o esmalte, amenizando as alterações superficiais provocadas pelo clareamento (Abouassi et al., 2010; Pinto et al., 2004).

A aplicação do ascorbato de sódio imediatamente após o clareamento promoveu o depósito de cristais de sal sobre a superfície do esmalte. Estes cristais são sais de sódio formados pela decomposição do ascorbato de sódio. Segundo Lai et al. (2002) cristais romboédricos foram observados quando o ascorbato de sódio foi aplicado após o clareamento com peróxido de hidrogênio. Entretanto, no presente estudo não foi possível identificar a forma dos cristais de sódio através da MEV.

A catalase promoveu pouco efeito sobre a superfície do esmalte. A descalcificação observada pelas imagens de MEV é decorrente da ação oxidante do peróxido de hidrogênio.

A peroxidase alterou a superfície do esmalte ao oxidar o peróxido de hidrogênio e promover a liberação de oxigênio.

### 6.2.2 Dentina

A aplicação de peróxido de hidrogênio a 38% não causou um condicionamento superficial da dentina e nem foi capaz de remover a smear layer. Os túbulos dentinários apresentaram-se obliterados pelo smear plug e a dentina peritubular e a intertubular foram modificadas pela ação oxidante do agente clareador. Sulieman et al. (2004) também observaram que o peróxido de hidrogênio não causou efeitos deletérios sobre a dentina e nem removeu a smear layer depositada sobre os túbulos dentinários.

Pelo fato do peróxido de hidrogênio não promover a dissolução da smear layer e abertura dos túbulos dentinários, pode-se sugerir que a sensibilidade dentinária comum após o clareamento não é causada pelo agente clareador e sim pela desidratação do dente.

O exato mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio sobre a dentina ainda não é claro, porém seus efeitos são resultantes da sua forte ação oxidante e de seu baixo pH (Chng et al., 2005).

O radical hidroxila (OH) liberado no clareamento é a forma de oxigênio mais reativa, capaz de oxidar e romper as ligações duplas não saturadas (Ito, Momoi, 2011). Este radical livre atua sobre os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina (Faraoni-Romano et al., 2008). A alteração do conteúdo inorgânico após o clareamento se deve à desmineralização da dentina causada pelo baixo pH do agente clareador. Dessa forma, uma dissolução dos componentes inorgânicos, redução nos níveis de cálcio e fósforo (Rotstein et al., 1996; Zalkind et al., 1996) e

conseqüente queda da dureza (Chng et al., 2005; Faraoni-Romano et al., 2008; Forner et al., 2009) podem ser observadas após o clareamento com peróxido de hidrogênio com pH ácido (Carrasco-Guerisoli et al., 2009). No presente estudo, entretanto, não houve desmineralização da dentina porque o seu pH crítico (6,0 a 6,5) não foi atingido já que o peróxido de hidrogênio usado possui pH neutro.

Os componentes orgânicos da dentina podem ser afetados pelo peróxido de hidrogênio devido a sua ação oxidante (Chng et al., 2005; Rotstein et al., 1996). Os radicais livres provocam a desnaturação dentinária e oxidação do colágeno e dos aminoácidos presentes na matriz orgânica (Kawamoto, Tsujimoto, 2004; Rotstein et al., 1996). A dentina peritubular é mais resistente a ação dos radicais livres do que a dentina intertubular. Esta característica está relacionada à diferença na composição desses dois tipos de dentina (Batista et al., 2007). A dentina intertubular é basicamente formada por matriz orgânica com fibras colágenas em 92% de sua composição enquanto que a dentina peritubular é hipermineralizada (Chng et al., 2005). Assim, os efeitos do peróxido de hidrogênio são maiores na dentina intertubular, devido à oxidação de seus componentes orgânicos e conseqüente perda de mineral (Chng et al., 2005). Os radicais hidroxila podem danificar a dentina peritubular e a intertubular ao oxidarem as suas proteínas (Kawamoto et al., 2004), quando o peróxido de hidrogênio é utilizado em alta concentração e aplicado por um longo período.

As maiores alterações morfológicas observadas na dentina são decorrentes do baixo pH do peróxido de hidrogênio e não de sua ação oxidante (Suliaman et al., 2004). O uso de agentes clareadores com pH neutro ou alcalino por um tempo reduzido pode minimizar os efeitos deletérios à dentina (Carrasco-Guerisoli et al., 2009).

O efeito dos agentes antioxidantes sobre a morfologia da dentina não está descrito na literatura, o que dificulta a comparação dos resultados obtidos.

Os agentes antioxidantes não foram capazes de remover a smear layer e promover a abertura dos túbulos dentinários. Assim como o peróxido de hidrogênio, todos os agentes antioxidantes apresentaram pH neutro, o que justifica a manutenção da smear layer após a aplicação destes produtos.

O ascorbato de sódio e a catalase alteraram a dentina intertubular e promoveram a exposição de fibras colágenas. Depósitos de cristais de sal foram observados sobre a superfície da dentina após a aplicação da peroxidase provenientes da sua decomposição.

Nenhum dos agentes antioxidantes testados foi capaz de reverter o efeito do peróxido de hidrogênio sobre a morfologia da dentina.

### **6.3 Força de adesão**

O peróxido de hidrogênio a 38% e os agentes antioxidantes reduziram a força de adesão ao esmalte e à dentina a curto e a longo prazo. Dessa forma, a terceira hipótese nula foi rejeitada.

#### **6.3.1 Esmalte**

A alta concentração de peróxido de hidrogênio reduz a resistência adesiva da resina composta ao esmalte (Dishman et al., 1994;



Titley et al., 1988; Torres et al., 2006; Unlu et al., 2008). Esta redução na adesão é independente do tipo de teste e resina utilizados, seqüência de condicionamento ácido e intervalo de tempo entre a restauração e a realização do teste (Titley et al., 1988).

Os resultados do presente estudo demonstraram que a força de adesão ao esmalte não foi reduzida devido às alterações morfológicas causadas pelo clareamento como descrito na literatura. Apenas a presença de oxigênio residual justifica a queda na força de adesão ao esmalte após o clareamento (Dishman et al., 1994; Titley et al., 1988; Unlu et al., 2008). O peróxido de hidrogênio se decompõe e libera oxigênio que fica retido no esmalte. Este oxigênio residual inibe a polimerização adesiva ao longo da junção resina-esmalte e próximo à base da camada híbrida (Titley et al., 1988; Unlu et al., 2008).

Esta diminuição na adesão é suficiente para afetar a performance clínica de restaurações aderidas ao esmalte clareado (Titley et al., 1988).

No grupo controle, falhas adesivas foram predominantes independentemente do momento testado. Para o esmalte clareado e restaurado após 7 dias, a maioria das falhas antes do envelhecimento foi coesiva em esmalte, provavelmente devido às pequenas alterações morfológicas causadas pelo efeito oxidante do peróxido de hidrogênio. Para os demais grupos experimentais a quantidade de debonding excedeu o esperado nos dois momentos de análise. Nenhum espécime de esmalte clareado foi tracionado porque 100% deles sofreram desunião adesiva no momento da secção, durante a termociclagem ou simulação da mastigação. A prevalência de debonding após o clareamento e aplicação dos agentes antioxidantes comprova a redução na força de adesão ao esmalte após estes tratamentos.

Áreas de esmalte livres de resina e tags resinosos curtos e fragmentados foram observados no esmalte clareado com peróxido de hidrogênio e restaurado com resina composta (Dishman et al., 1994; Titley et al., 1991). Bolhas de ar podem estar aprisionadas na interface adesiva reduzindo a força de adesão ao esmalte clareado. Estes resultados podem explicar a grande quantidade de debonding obtida no presente estudo porque o peróxido de hidrogênio altera a qualidade da resina e sua adesão ao esmalte.

As alterações na força de adesão ao esmalte clareado são reversíveis e dependem da concentração do agente clareador e do tempo de exposição (Dishman et al., 1994). Íons peróxido substituem os radicais livres na malha de apatita, produzindo peróxido-apatita (Zhao et al., 2000). Após a decomposição dos íons peróxido, os radicais hidroxila substituídos entram novamente na malha de apatita, revertendo os efeitos adversos causados pelo peróxido de hidrogênio.

Diversos métodos têm sido propostos para reverter a força de adesão reduzida após o clareamento. O método mais comum consiste em aguardar um certo período de tempo após o clareamento para execução de qualquer procedimento adesivo. A resistência adesiva pode ser revertida 7 dias após o tratamento clareador (Barbosa et al., 2008; Bulut et al., 2005; Türkün, Kaya, 2004; Unlu et al., 2008). Este período é importante para a estabilização da cor do dente, eliminação do oxigênio residual e obtenção de melhores resultados estéticos, o que facilita a seleção da resina composta a ser usada. Os resultados deste estudo estão de acordo com Türkün e Kaya (2004) que demonstraram que a imersão *in vitro* do esmalte clareado em água destilada por 7 dias promove uma completa reversão da força de adesão reduzida, semelhante ao esmalte não clareado. Isto se deve à eliminação do oxigênio residual pelo processo de imersão. A saliva humana teria supostamente a mesma ação após o clareamento no meio oral.

Embora o período de espera tenha as suas vantagens, a execução de qualquer procedimento restaurador imediatamente após o clareamento é impossibilitada. Em algumas situações clínicas, há necessidade de troca de restaurações após o clareamento e a espera para a sua execução muitas vezes não é possível. Assim, outros métodos têm sido testados para permitir que a adesão ao esmalte seja eficaz e realizada imediatamente após o clareamento. Cvitko et al. (1991) recomendam a remoção da camada superficial do esmalte rica em oxigênio. A sua exata profundidade não é conhecida, porém acredita-se que o esmalte superficial tenha de 5 a 10  $\mu\text{m}$  senão o condicionamento ácido seria capaz de removê-lo (Dishman et al., 1994). O tratamento do esmalte com etanol (Kum et al., 2004), o uso de adesivos com solventes orgânicos (Tanizawa, 2005) e aplicação de agentes antioxidantes (Kum et al., 2004; Lai et al., 2001, 2002) também têm sido propostos.

No presente estudo, os agentes enzimáticos como a catalase e a peroxidase e não enzimáticos como o ascorbato de sódio foram utilizados por possuírem propriedades antioxidantes.

O ascorbato de sódio é um agente antioxidante neutro, biocompatível, solúvel em água e amplamente utilizado na indústria alimentícia (Bulut et al., 2005). Seu efeito neutralizador elimina os radicais livres no sistema biológico (Rose, Bode, 1993) e é efetivo tanto na forma de gel quanto em solução (Kimyai, Valizadeh, 2006). Alguns estudos (Bulut et al., 2005; Türkün, Kaya, 2004) têm demonstrado que o ascorbato de sódio a 10% é capaz de reverter a força de adesão ao esmalte reduzida após o clareamento semelhante à espera de 1 semana para realização da restauração. Este agente antioxidante permite a polimerização dos radicais livres da resina sem interrupção prematura e restabelece o potencial oxirredutor do substrato, revertendo a adesão comprometida (Gökçe et al., 2008). Assim, o ascorbato de sódio seria uma alternativa ao período de

espera para restabelecimento da força de adesão imediatamente após o clareamento (Türkün, Kaya, 2004; Unlu et al., 2008).

Embora muitos autores tenham obtido resultados satisfatórios com a aplicação do ascorbato de sódio a 10%, no presente estudo a força de adesão ao esmalte clareado não foi restabelecida após a aplicação deste agente antioxidante por 10 minutos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de resistência adesiva do esmalte clareado (G2) e tratado com ascorbato de sódio (G4) antes e após o envelhecimento. A desidratação do esmalte por um tempo prolongado e a aplicação do ascorbato de sódio por um tempo reduzido justificam os baixos valores de adesão obtidos. Lai et al. (2002) observaram que a adesão foi restabelecida com a aplicação do ascorbato de sódio por 3 horas após o clareamento com peróxido de carbamida. Além do agente clareador ser diferente e o tempo de aplicação do ascorbato de sódio não ser clinicamente aceitável, o procedimento restaurador também não foi realizado imediatamente após o clareamento. A adesão foi feita após a imersão do esmalte em água por 10 minutos com o intuito de dissolver completamente os cristais depositados sobre a superfície e evitar a geração de áreas livres de resina na interface. Türkün e Kaya (2004) aplicaram ascorbato de sódio por 10 minutos sobre a superfície do esmalte após o clareamento com peróxido de carbamida em diferentes concentrações. Apesar do tempo de aplicação do agente antioxidante ser o mesmo deste estudo, a força de adesão foi revertida porque o peróxido de carbamida possui menor ação oxidante do que o peróxido de hidrogênio em alta concentração. Dessa forma, a diferença nos resultados obtidos na presente investigação científica com os da literatura se deve às características das metodologias utilizadas com relação ao agente clareador, tempo de contato do ascorbato de sódio com o esmalte e momento da realização da restauração.

De acordo com Lai et al. (2002), o ascorbato de sódio a 10% precisa ser aplicado por no mínimo um terço do tempo do clareamento. Entretanto, o aumento do tempo de aplicação do agente antioxidante é inviável clinicamente, sendo necessário posterior comprovação científica da sua efetividade.

A peroxidase também não reverteu a força de adesão ao esmalte após o clareamento, não apresentando diferença estatisticamente significativa em relação aos demais agentes antioxidantes e o peróxido de hidrogênio. A formação de tags resinosos escassos e dispersos após a aplicação desta enzima justifica os baixos valores de adesão obtidos (Becerra, 2004).

A catalase acelera a transformação de peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (Torres et al., 2006). A reação é rápida e pouca energia é envolvida já que a decomposição do peróxido de hidrogênio é acelerada em mais de 100 milhões de vezes (Torres et al., 2006). A quantidade de peróxido decomposto é diretamente proporcional à concentração da enzima. No presente estudo, a catalase foi o único agente antioxidante capaz de reverter a força de adesão ao esmalte após o clareamento à curto prazo, sem diferença estatisticamente significativa em relação ao esmalte não clareado e tratado com a peroxidase. O melhor efeito antioxidante observado com o uso da catalase se deve ao seu mecanismo de ação que precisa de um número reduzido de moléculas. Torres et al. (2006) utilizaram a mesma concentração da catalase por um tempo de 20 minutos e observaram que a sua aplicação aumentou a força de adesão ao esmalte clareado, porém não foi capaz de reverter completamente os efeitos deletérios do clareamento sobre a adesão ao esmalte. Entretanto, Rotstein et al. (1996) verificaram que a aplicação da catalase por apenas 3 minutos já foi suficiente para eliminar totalmente o peróxido de hidrogênio da estrutura dental. Os resultados do presente estudo estão de acordo com Becerra

(2004) que constatou que a força de adesão ao esmalte clareado com peróxido de hidrogênio a 38% foi aumentada após aplicação da catalase por 15 minutos. A presença de tags resinosos consistentes, regularmente distribuídos e uniformes observados pelo microscópio confocal justifica estes resultados.

Na literatura o efeito do clareamento e de agentes antioxidantes sobre a adesão à estrutura dental tem sido avaliado apenas a curto prazo. Nenhuma pesquisa verificou a influência das alterações de temperatura e da incidência de forças mastigatórias ao longo do tempo sobre a adesão ao esmalte clareado e tratado com agentes neutralizadores. Foi possível observar neste estudo que o envelhecimento de 5 anos reduziu a força de adesão ao esmalte clareado e restaurado após 7 dias. Além disso, uma queda na adesão foi verificada com o uso da catalase. Apesar desta enzima apresentar uma forte ação antioxidante, seu efeito é rapidamente perdido devido a sua instabilidade (Torres et al., 2006). Além desta desvantagem, o seu uso clínico é dificultado pelo seu alto custo.

Novos estudos são necessários para avaliar a aplicação destes agentes antioxidantes em maiores concentrações e por um curto período de tempo para que seja viável clinicamente e possua uma eficiente ação neutralizadora a curto e a longo prazo.

### 6.3.2 Dentina

A redução da adesão à dentina clareada também foi observada em outros estudos (kaya, Türkün, 2003; Nomoto et al., 2006; Spyrides et al., 2000) e foi causada pela presença de peróxido residual na matriz de colágeno e nos túbulos dentinários que eventualmente se

decompõe em oxigênio e água (Lai et al., 2001). A dentina e seus fluidos servem de reservatório de oxigênio que interferem na infiltração da resina dentro da dentina condicionada e inibem a polimerização adesiva (Sasaki et al., 2009). A dentina clareada com peróxido de hidrogênio apresenta tags resinosos descolados dos túbulos dentinários e camada híbrida fragmentada (Lai et al., 2001). A grande quantidade de debonding observada na dentina clareada é justificada pelas características apresentadas na interface adesiva.

Os efeitos do clareamento e da aplicação de agentes antioxidantes sobre a dentina não têm sido muito estudados. O peróxido de hidrogênio difunde-se rapidamente dentro da dentina quando utilizado em alta concentração e por um longo período (Spyrides et al., 2000). Sua ação depende do seu pH, da capacidade de amortecimento da dentina, da densidade e diâmetro dos túbulos dentinários (May et al., 2010).

De acordo com Weston et al. (2007), agentes antioxidantes como o ascorbato de sódio são capazes de restaurar o potencial oxirredutor da dentina oxidada, proporcionando uma polimerização efetiva da resina composta. Entretanto, no presente estudo nenhum dos agentes antioxidantes testados foi capaz de reverter a força de adesão reduzida à dentina clareada a curto e a longo prazo. A presença de cristais de sódio na interface adesiva após aplicação do ascorbato de sódio foi responsável pela baixa força de adesão observada (Lai et al., 2001). Além disso, a desidratação da dentina por um longo período e a aplicação do agente antioxidante por pouco tempo justificam os resultados obtidos. Sasaki et al. (2009) também constataram que o ascorbato de sódio tanto em gel quanto em solução não foi capaz de reverter os efeitos deletérios do peróxido de hidrogênio à dentina. O aumento da concentração do agente antioxidante e seu tempo de aplicação podem ser uma alternativa para neutralizar os radicais livres presentes na dentina após o clareamento e conseqüentemente restabelecer sua força de adesão

(May et al., 2010; Nomoto et al., 2006). Quanto maior o tempo de aplicação do ascorbato de sódio, maior seu efeito neutralizador (Nomoto et al., 2006).

O peróxido de hidrogênio presente na dentina clareada reduz sua ação com o tempo devido a sua instabilidade (May et al., 2010). Um período de espera de 7 (Elkhatib et al., 2003; Spyrides et al., 2000) a 14 dias (Barbosa et al., 2008) tem sido proposto para reverter a resistência adesiva da dentina após o clareamento. Na presente investigação científica a resistência da dentina clareada e restaurada 7 dias após foi a mesma da dentina não clareada. Assim 1 semana foi suficiente para restabelecer a adesão anteriormente comprometida pelo peróxido de hidrogênio.

As falhas adesivas foram predominantes apenas na dentina intacta e naquela restaurada após 7 dias do término do clareamento tanto antes quanto após o envelhecimento. Os maiores valores de força de adesão observados após estes tratamentos são coerentes com o tipo de falha obtida. A prevalência de debonding e valores de adesão iguais a 0 MPa demonstraram que o clareamento e os agentes antioxidantes não foram capazes de proporcionar adesão efetiva à dentina.

O envelhecimento reduziu a adesão à dentina devido à grande incidência de forças mastigatórias e alterações térmicas. A dentina intacta (G7) e a clareada e restaurada após 7 dias (G9) apresentaram queda na resistência adesiva à longo prazo. A força de adesão à dentina após o clareamento e aplicação dos agentes antioxidantes manteve-se nula com o envelhecimento.

Novos estudos precisam ser realizados para avaliar o efeito de agentes antioxidantes em diferentes concentrações e tempo de aplicação sobre a dentina clareada.



## 7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

1. As três hipóteses nulas foram rejeitadas. O peróxido de hidrogênio a 38% e os agentes antioxidantes afetaram a rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão de restaurações, submetidas ou não ao envelhecimento artificial, ao esmalte e à dentina.
2. Os agentes antioxidantes não foram capazes de reverter a força de adesão ao esmalte e à dentina clareados.
3. O esmalte e a dentina clareados podem ser restaurados efetivamente 7 dias após o clareamento.
4. A força de adesão foi significativamente afetada pelo envelhecimento das áreas adesivas, independentemente do substrato aderido.

## 8 REFERÊNCIAS\*

1. Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. Clin Oral Investig. 2010 Jul 10. [Epub ahead of print]
2. Amaral C, Jorge A, Veloso K, Erhardt M, Arias V, Rodrigues JA. The effect of in-office in combination with intracoronal bleaching on enamel and dentin bond strength and dentin morphology. J Contemp Dent Pract. 2008;9(5):17-24.
3. Arcari GM, Araújo E, Baratieri LN, Lopes GC. Microtensile bond strength of a nanofilled composite resin to human dentin after nonvital tooth bleaching. J Adhes Dent. 2007;9(3):333-40.
4. Azrak B, Callaway A, Kurth P, Willershausen B. Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. J Esthet Restor Dent. 2010;22(6):391-9.
5. Barbosa CM, Sasaki RT, Florio FM, Basting RT. Influence of time on bond strength after bleaching with 35% hydrogen peroxide. J Contemp Dent Pract. 2008;9(2):81-8.
6. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. Micromorphology and surface roughness of sound and demineralized enamel and dentin bleached with a 10% carbamide peroxide bleaching agent. Am J Dent. 2007;20(2):97-102.

---

\*Baseado em:

International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References. Disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform-requirements.html>.

7. Batista LH, Júnior JG, Silva MF, Tonholo J. Atomic force microscopy of removal of dentin smear layers. *Microsc Microanal.* 2007;13(4):245-50.
8. Becerra EV. Función de las sustancias antioxidants sobre esmalte blanqueado con peróxido de hidrogeno ante La adhesión inmediata de composites y sus câmbios estructurales y morfológicos superficiales [tese]. Barcelona: Universidad de Barcelona; 2004.
9. Berger SB, Cavalli V, Ambrosano GM, Giannini M. Changes in surface morphology and mineralization level of human enamel following in-office bleaching with 35% hydrogen peroxide and light irradiation. *Gen Dent.* 2010;58(2):74-9.
10. Blatz MB, Oppes S, Chiche G, Holst S, Sadan A. Influence of cementation technique on fracture strength and leakage of alumina all-ceramic crowns after cyclic loading. *Quintessence Int.* 2008;39(1):23-32.
11. Bulut H, Kaya AD, Turkun M. Tensile bond strength of brackets after antioxidant treatment on bleached teeth. *Eur J Orthod.* 2005;27(5):466-71.
12. Bulut H, Turkun M, Kaya AD. Effect of an antioxidizing agent on the shear bond strength of brackets bonded to bleached human enamel. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;129(2):266-72.
13. Cadenaro M, Breschi L, Nucci C, Antonioli F, Visintini E, Prati C, et al. Effect of two in-office whitening agents on the enamel surface in vivo: a morphological and non-contact profilometric study. *Oper Dent.* 2008;33(2):127-34.
14. Cadenaro M, Navarra CO, Mazzoni A, Nucci C, Matis BA, Di Lenarda R, Breschi L. An in vivo study of the effect of a 38 percent hydrogen peroxide in-office whitening agent on enamel. *J Am Dent Assoc.* 2010;141(4):449-54.
15. Carrasco-Guerisoli LD, Schiavoni RJ, Barroso JM, Guerisoli DM, Pécora JD, Fröner IC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. *Dent Traumatol.* 2009;25(2):176-80.

16. Chen HP, Chang CH, Liu JK, Chuang SF, Yang JY. Effect of fluoride containing bleaching agents on enamel surface properties. *J Dent.* 2008;36(9):718-25.
17. Chng HK, Ramli HN, Yap AU, Lim CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. *J Dent.* 2005;33(5):363-9.
18. Cobankara FK, Unlü N, Altinöz HC, Füsün O. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. *Int Dent J.* 2004;54(4):211-8.
19. Comlekoglu ME, Gokce B, Kaya AD, Turkun M, Ozpinar B. Reversal of reduced bond strength after bleaching. *Gen Dent.* 2010;58(3):258-63.
20. Cvitko E, Denehy GE, Swift EJ Jr, Pires JA. Bond strength of composite resin to enamel bleached with carbamide peroxide. *J Esthet Dent.* 1991;3(3):100-2.
21. Dietrich AM, English J, McGrory K, Ontiveros J, Powers JM, Bussa HI Jr, et al. A comparison of shear bond strengths on bleached and unbleached bovine enamel. *Tex Dent J.* 2010;127(3):285-91.
22. Dishman MV, Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. *Dent Mater.* 1994 Jan;10(1):33-6.
23. Duschner H, Götz H, White DJ, Kozak KM, Zoladz JR. Effects of hydrogen peroxide bleaching strips on tooth surface color, surface microhardness, surface and subsurface ultrastructure, and microchemical (Raman spectroscopic) composition. *J Clin Dent.* 2006;17(3):72-8.
24. Dutra RA, Branco JR, Alvim HH, Poletto LT, Albuquerque RC. Effect of hydrogen peroxide topical application on the enamel and composite resin surfaces and interface. *Indian J Dent Res.* 2009;20(1):65-70.
25. Elkhatib H, Nakajima M, Hiraishi N, Kitasako Y, Tagami J, Nomura S. Surface pH and bond strength of a self-etching primer/adhesive system to intracoronal dentin after application of hydrogen peroxide bleach with sodium perborate. *Oper Dent.* 2003;28(5):591-7.
26. Ernst CP, Marroquín BB, Willershausen-Zönnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int.* 1996;27(1):53-6.

27. Faraoni-Romano JJ, Da Silveira AG, Turssi CP, Serra MC. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. *J Esthet Restor Dent*. 2008;20(6):395-402.
28. Faraoni-Romano JJ, Turssi CP, Serra MC. Concentration-dependent effect of bleaching agents on microhardness and roughness of enamel and dentin. *Am J Dent*. 2007;20(1):31-4.
29. Ferreira SD, Araújo JL, Morhy ON, Tapety CM, Youssef MN, Sobral MA. The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microsc Res Tech*. 2010 Nov 3. [Epub ahead of print]
30. Forner L, Salmerón-Sánchez M, Palomares M, Liena C, Amengual J. The use of atomic force microscopy in determining the stiffness and adhesion force of human dentin after exposure to bleaching agents. *J Endod*. 2009;35(10):1384-6.
31. Gökçe B, Cömlekoğlu ME, Ozpinar B, Türkün M, Kaya AD. Effect of antioxidant treatment on bond strength of a luting resin to bleached enamel. *J Dent*. 2008;36:780-5.
32. Goracci C, Sadek FT, Monticelli F, Cardoso PEC, Ferrari M. Microtensile bond strength of self-etching adhesives to enamel and dentin. *J Adhes Dent*. 2004;6(4):313-8.
33. Götz H, Duschner H, White DJ, Klukowska MA. Effects of elevated hydrogen peroxide 'strip' bleaching on surface and subsurface enamel including subsurface histomorphology, micro-chemical composition and fluorescence changes. *J Dent*. 2007;35(6):457-66.
34. Gultz J, Kaim J, Scherer W, Gupta H. Two in-office bleaching systems: a scanning electron microscope study. *Compend Contin Educ Dent*. 1999;20(10):965-8, 970.
35. Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *J Agric Food Chem*. 2005;53(8):2928-35.

36. Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent.* 1999;27(7):509-15.
37. Hikita K, Van Meerbeek, De Munck J, Ikeda T, Van Lanuyt K, Maida T, et al. Bonding effectiveness of adhesive luting agents to enamel and dentin. *Dent Mater.* 2007;23(1):71-80.
38. Hosoya N, Honda K, Lino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. *J Dent.* 2003;31(8):543-8.
39. Ito Y, Momoi Y. Bleaching using 30% hydrogen peroxide and sodium hydrogen carbonate. *Dent Mater J.* 2011;30(2):193-8.
40. Josey AL, Meyers IA, Romaniuk K, Symons AL. The effect of a vital bleaching technique on enamel surface morphology and the bonding of composite resin to enamel. *J Oral Rehabil.* 1996;23(4):244-50.
41. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. *J Endod.* 2004;30(1):45-50.
42. Kaya AD, Türkün M. Reversal of dentin bonding to bleached teeth. *Oper Dent.* 2003;28(6):825-9.
43. Khoroushi M, Feiz A, Khodamoradi R. Fracture resistance of endodontically-treated teeth: effect of combination bleaching and an antioxidant. *Oper Dent.* 2010;35(5):530-7.
44. Kimyai S, Oskoe SS, Rafighi A, Valizadeh H, Ajami AA, Helali ZN. Comparison of the effect of hydrogel and solution forms of sodium ascorbate on orthodontic bracket-enamel shear bond strength immediately after bleaching: an in vitro study. *Indian J Dent Res.* 2010;21(1):54-8.
45. Kimyai S, Valizadeh H. Comparison of the effect of hydrogel and a solution of sodium ascorbate on dentin-composite bond strength after bleaching. *J Contemp Dent Pract.* 2008;9(2):105-12.

46. Kimyai S, Valizadeh H. The effect of hydrogel and solution of sodium ascorbate on bond strength in bleached enamel. *Oper Dent*. 2006;31(4):496-9.
47. Kum KY, Lim KR, Lee CY, Park KH, Safavi KE, Fouad AF, et al. Effects of removing residual peroxide and other oxygen radicals on the shear bond strength and failure modes at resin-tooth interface after tooth bleaching. *Am J Dent*. 2004;17(4):267-70.
48. Lai SC, Mak YF, Cheung GS, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, et al. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res*. 2001;80(10):1919-24.
49. Lai SC, Tay FR, Cheung GSP, Mak YF, Carvalho RM, Wei SHY, et al. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *J Dent Res*. 2002;81(7):477-81.
50. Lee KH, Kim HI, Kim KH, Kwon YH. Mineral loss from bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. *J Oral Rehabil*. 2006;33(3):229-33.
51. Lima AF, Fonseca FM, Cavalcanti AN, Aguiar FH, Marchi GM. Effect of the diffusion of bleaching agents through enamel on dentin bonding at different depths. *Am J Dent*. 2010;23(2):113-5.
52. Lima AF, Fonseca FM, Freitas MS, Palialol AR, Aguiar FH, Marchi GM. Effect of Bleaching Treatment and Reduced Application Time of an Antioxidant on Bond Strength to Bleached Enamel and Subjacent Dentin. *J Adhes Dent*. 2010 [Epub ahead of print]
53. Mahmoud SH, Elembaby Ael S, Zaher AR, Grawish Mel-A, Elsabaa HM, El-Negoly SA, et al. Effect of 16% carbamide peroxide bleaching gel on enamel and dentin surface micromorphology and roughness of uremic patients: an atomic force microscopic study. *Eur J Dent*. 2010;4(2):175-82.
54. Mahringer C, Fureder M, Kastner M, Ebner A, Hinterdorfer P, Vitkov L, et al. Examination of native and carbamide peroxide-bleached human tooth enamel by atomic force microscopy. *Ultrastruct Pathol*. 2009;33(5):189-96.
55. Markovic L, Jordan RA, Lakota N, Gaengler P. Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching. *J Endod*. 2007;33(5):607-10.

56. Martin JM, de Almeida JB, Rosa EA, Soares P, Torno V, Rached RN, et al. Effect of fluoride therapies on the surface roughness of human enamel exposed to bleaching agents. *Quintessence Int.* 2010;41(1):71-8.
57. May LG, Salvia AC, Souza RO, Michida SM, Valera MC, Takahashi FE, et al. Effect of sodium ascorbate and the time lapse before cementation after internal bleaching on bond strength between dentin and ceramic. *J Prosthodont.* 2010;19(5):374-80.
58. Mielczarek A, Klukowska M, Ganowicz M, Kwiatkowska A, Kwaśny M. The effect of strip, tray and office peroxide bleaching systems on enamel surfaces in vitro. *Dent Mater.* 2008;24(11):1495-500.
59. Miranda CB, Pagani C, Benetti AR, Matuda FS. Evaluation of the bleached human enamel by scanning electron microscopy. *J Appl Oral Sci.* 2005;13:204-11.
60. Mondelli RF, Azevedo JF, Francisconi PA, Ishikiriama SK, Mondelli J. Wear and surface roughness of bovine enamel submitted to bleaching. *Eur J Esthet Dent.* 2009;4(4):396-403.
61. Muraguchi K, Shigenobu S, Suzuki S, Tanaka T. Improvement of bonding to bleached bovine tooth surfaces by ascorbic acid treatment. *Dent Mater J.* 2007;26(6):875-81.
62. Nomoto S, Kameyama A, Nakazawa T, Yazaki K, Amagai T, Kawada E, et al. Influence of ascorbic acid on bonding of peroxide-affected dentin and 4-META/MMA-TBB resin. *Clin Oral Investig.* 2006;10(4):325-30.
63. Pashley DH. Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl.* 1984;3:13-29.
64. Perdigão J, Gomes G, Duarte S Jr, Lopes MM. Enamel bond strengths of pairs of adhesives from the same manufacturer. *Oper Dent* 2005 Jul-Aug;30(4):492-9.
65. Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res.* 2004;18(4):306-11.



66. Prasansuttiporn T, Nakajima M, Kunawarote S, Foxton RM, Tagami J. Effect of reducing agents on bond strength to NaOCl-treated dentin. *Dent Mater.* 2011;27(3):229-34.
67. Rose RC, Bode AM. Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *FASEB J.* 1993;7(12):1135-42.
68. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod.* 1996;22(1):23-5.
69. Ruse ND, Smith DC, Torneck CD, Titley KC. Preliminary surface analysis of etched, bleached, and normal bovine enamel. *J Dent Res.* 1990;69(9):1610-3.
70. Sasaki RT, Arcanjo AJ, Flório FM, Basting RT. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(6):611-6.
71. Sasaki RT, Flório FM, Basting RT. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% alpha-tocopherol in different formulations on the shear bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Oper Dent.* 2009;34(6):746-52.
72. Silikas N, Watts DC, England KER, Jandt KD. Surface fine structure of treated dentine investigated with tapping mode atomic force microscopy (TMAFM). *J Dent.* 1999;27(2):137-44.
73. Silva AP, Lima AF, Cavalcanti AN, Marchi GM. Effects of 3% sodium ascorbyl phosphate on the hardness and bond strength of human enamel bleached with 10% carbamide peroxide. *Gen Dent.* 2010;58(4):e174-8.
74. Souza RO, Lombardo GH, Pereira SM, Zamboni SC, Valera MC, Araujo MA, Ozcan M. Analysis of tooth enamel after excessive bleaching: a study using scanning electron microscopy and energy dispersive x-ray spectroscopy. *Int J Prosthodont.* 2010;23(1):29-32.
75. Spalding M, Taveira LA, de Assis GF. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *J Esthet Restor Dent.* 2003;15(3):154-64.

76. Spyrides GM, Perdigão J, Pagani C, Araújo MA, Spyrides SM. Effect of whitening agents on dentin bonding. *J Esthet Dent*. 2000;12(5):264-70.
77. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentin. *J Dent*. 2004;32(7):581-90.
78. Sung EC, Chan SM, Mito R, Caputo AA. Effect of carbamide peroxide bleaching on the shear bond strength of composite to dental bonding agent enhanced enamel. *J Prosthet Dent*. 1999;82(5):595-9.
79. Tanizawa Y. Reaction characteristics of a tooth-bleaching agent containing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NaF: in vitro study of crystal structure change in treated hydroxyapatite and chemical states of incorporated fluoride. *Journal of Cosmetic Science* 2005;56(2):121-34.
80. Teixeira EC, Turssi CP, Hara AT, Serra MC. Influence of post-bleaching time intervals on dentin bond strength. *Braz Oral Res*. 2004;18(1):75-9.
81. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. *J Dent Res*. 1988;67(12):1523-8.
82. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Chernecky R, Adibfar A. Scanning electron microscopy observations on the penetration and structure of resin tags in bleached and unbleached bovine enamel. *J Endod*. 1991;17(2):72-5.
83. Titley K, Torneck CD, Smith D. The effect of concentrated hydrogen peroxide solutions on the surface morphology of human tooth enamel. *J Endod*. 1988;14(2):69-74.
84. Torres CRG, Koga AF, Borges AB. The effects of anti-oxidant agents as neutralizers of bleaching agents on enamel bond strength. *Braz J Oral Sci*. 2006;5(16):971-6.
85. Türkün M, Celik EU, Kaya AD, Arici M. Can the hydrogel form of sodium ascorbate be used to reverse compromised bond strength after bleaching? *J Adhes Dent*. 2009;11(1):35-40.

86. Türkün M, Kaya AD. Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. *J Oral Rehabil.* 2004;31(12):1184-91.
87. Unlu N, Cobankara FK, Ozer F. Effect of elapsed time following bleaching on the shear bond strength of composite resin to enamel. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;84(2):363-8.
88. Ushigome T, Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Influence of peroxide treatment on bovine enamel surface--cross-sectional analysis. *Dent Mater J.* 2009;28(3):315-23.
89. Vongphan N, Senawongse P, Somsiri W, Harnirattisai C. Effects of sodium ascorbate on microtensile bond strength of total-etching adhesive system to NaOCl treated dentine. *J Dent.* 2005;33(8):689-95.
90. Weston CH, Ito S, Wadgaonkar B, Pashley DH. Effects of time and concentration of sodium ascorbate on reversal of NaOCl-induced reduction in bond strengths. *J Endod.* 2007;33(7):879-81.
91. White DJ, Duschner H, Götz H. Effects of hydrogen peroxide bleaching strips on root surfaces in vitro. *J Clin Dent.* 2007;18(3):87-90.
92. Wilder Jr AD, Swift Jr EJ, May Jr KN, Thompson JY, McDougal RA. Effect of finishing technique on the microleakage and surface texture of resin-modified glass ionomer restorative materials. *J Dent.* 2000;28(5):367-73.
93. Yang Z, Zou M, Lin X, Yang X, Li N, Wang K. Novel method to measure enamel surface porosity with hydrogen peroxide bleaching. *Am J Dent.* 2009;22(5):283-9.
94. Yurdukuru B, Akören AC, Unsal MK. Alterations in human enamel surface morphology following the use of an office bleaching agent and consecutive application of 37% phosphoric acid in vivo. *J Clin Dent.* 2003;14(4):103-7.
95. Zalkind M, Arwaz JR, Goldman A, Rotstein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. *Endod Dent Traumatol.* 1996;12(2):82-8.

96. Zhao H, Li X, Wang J, Qu S, Weng J, Zhang X. Characterization of peroxide ions in hydroxyapatite lattice. *J Biomed Mater Res.* 2000;52(1):157-63.

**APÊNDICE A** – Dados obtidos no ensaio de rugosidade superficial do esmalte

Tabela 1 – Dados de rugosidade superficial (nm) do esmalte para cada condição experimental (n=9)

<b>Intacto</b>	<b>Clareamento</b>	<b>Clar.+AS</b>	<b>Clar.+Cat.</b>	<b>Clar.+Per.</b>
40,39	44,76	38,16	37,68	41,71
43,26	43,46	40,15	47,13	48,73
40,90	39,26	36,11	44,89	55,97
46,05	41,67	40,24	39,76	57,24
40,46	39,39	39,30	45,58	54,58
42,85	42,65	33,52	40,79	57,62
32,86	37,29	41,55	38,97	56,37
37,68	34,13	41,79	46,00	58,16
36,32	41,82	40,57	36,49	40,58

**APÊNDICE B** - Dados obtidos no ensaio de rugosidade superficial da dentina

Tabela 5 – Dados de rugosidade superficial (nm) da dentina para cada condição experimental (n=9)

<b>Intacto</b>	<b>Clareamento</b>	<b>Clar.+AS</b>	<b>Clar.+Cat.</b>	<b>Clar.+Per.</b>
26,83	86,49	99,70	68,19	91,46
30,56	84,07	97,02	60,70	75,88
28,02	78,25	107,86	56,85	94,63
21,74	75,46	98,25	50,95	87,75
32,41	75,96	85,66	55,78	75,60
29,75	82,19	84,71	56,65	89,98
26,81	84,55	98,07	55,81	74,43
30,85	78,51	82,39	67,00	73,08
22,38	72,78	105,98	54,04	91,30

**APÊNDICE C – Dados obtidos no ensaio de microtração do esmalte**

Tabela 9 – Dados de força de adesão (MPa) do esmalte para cada grupo experimental

*(continua)*

<b>G1</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G4</b>	<b>G5</b>	<b>G5</b>	<b>G6</b>	<b>G6</b>
<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>
82,69	34,48	0,00	0,00	56,36	13,61	19,49	0,00	18,69	0,00	42,00	15,20
56,71	48,81	0,00	0,00	52,17	48,57	0,00	0,00	28,74	0,00	43,15	18,86
23,70	45,65	0,00	0,00	37,79	16,01	0,00	0,00	14,57	0,00	51,54	25,78
46,53	58,21	0,00	0,00	70,96	23,07	0,00	0,00	31,60	0,00	29,58	28,98
73,85	32,94	0,00	0,00	36,44	39,30	0,00	0,00	22,82	0,00	16,87	0,00
40,42	38,65	0,00	0,00	93,31	31,73	0,00	0,00	13,54	0,00	21,27	0,00
43,78	26,56	0,00	0,00	39,60	46,98	0,00	0,00	35,50	0,00	36,41	0,00
74,77	24,05	0,00	0,00	51,60	22,80	0,00	0,00	0,00	0,00	44,77	0,00
30,63	52,36	0,00	0,00	82,63	27,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
65,37	28,42	0,00	0,00	34,36	8,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
35,52	32,10	0,00	0,00	31,62	34,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,00	41,53	0,00	0,00	44,02	24,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
38,28	52,08	0,00	0,00	62,05	32,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
52,42	50,25	0,00	0,00	26,80	33,79	0,00	0,00	33,29	0,00	0,00	0,00
44,34	22,68	0,00	0,00	45,92	20,14	0,00	0,00	34,25	0,00	0,00	0,00
46,08	31,45	0,00	0,00	48,64	0,00	0,00	0,00	39,39	0,00	0,00	0,00
47,96	54,10	0,00	0,00	67,66	0,00	56,41	0,00	11,32	0,00	0,00	0,00
44,33	25,36	0,00	0,00	39,12	0,00	0,00	0,00	34,61	0,00	0,00	0,00
36,47	52,43	0,00	0,00	43,17	0,00	0,00	34,82	45,76	0,00	0,00	0,00
0,00	27,53	0,00	0,00	31,62	0,00	0,00	12,00	25,31	0,00	0,00	0,00
0,00	0,00	0,00	0,00	50,63	0,00	0,00	24,95	21,26	0,00	0,00	0,00
0,00	31,54	0,00	0,00	57,83	0,00	0,00	0,00	33,49	0,00	0,00	0,00
0,00	17,44	0,00	0,00	60,99	28,21	0,00	0,00	21,11	0,00	0,00	0,00
0,00	23,64	0,00	0,00	47,41	53,21	0,00	0,00	23,36	0,00	0,00	0,00
27,10	33,09	0,00	0,00	67,06	14,47	0,00	0,00	41,30	0,00	0,00	0,00
29,96	39,63	0,00	0,00	56,66	38,88	0,00	0,00	24,51	0,00	0,00	0,00
22,02	17,54	0,00	0,00	36,99	21,78	0,00	0,00	47,29	0,00	0,00	0,00
25,66	21,35	0,00	0,00	56,76	35,04	0,00	0,00	34,99	0,00	0,00	0,00
26,61	0,00	0,00	0,00	39,84	18,83	18,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
74,49	0,00	0,00	0,00	38,77	26,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
53,68	0,00	0,00	0,00	26,59	20,08	0,00	0,00	0,00	8,09	0,00	0,00
48,71	0,00	0,00	0,00	51,34	18,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,10
75,98	18,30	0,00	0,00	73,40	20,08	0,00	0,00	19,88	0,00	0,00	0,00
52,94	30,06	0,00	0,00	61,25	10,07	0,00	25,40	19,19	0,00		0,00
38,38	13,42	0,00	0,00	72,16	37,25	0,00	10,18	16,57	0,00		0,00
0,00	45,50	0,00	0,00	52,09	38,29	0,00	13,29	26,46	0,00		0,00
0,00	25,58	0,00	0,00	38,96	33,56	0,00	8,78	0,00	0,00		0,00
0,00	17,26	0,00	0,00	78,66	41,56	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00
0,00	26,35	0,00	0,00	0,00	18,72	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00
0,00	36,71	0,00	0,00	0,00	34,84	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00
0,00	20,30	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	0,00		0,00
0,00	25,56	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	0,00		0,00
0,00	19,41	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	0,00		0,00

Tabela 9 – Dados de força de adesão (MPa) do esmalte para cada grupo experimental

*(conclusão)*

G1 24h	G1 Env	G2 24h	G2 Env	G3 24h	G3 Env	G4 24h	G4 Env	G5 24h	G5 Env	G6 24h	G6 Env
41,02	0,00			45,70	0,00		0,00	0,00	0,00		0,00
69,61	0,00			35,34	0,00			0,00	0,00		0,00
13,63	0,00			56,79	0,00			0,00	0,00		
29,51	0,00			70,62	0,00				0,00		
23,21	0,00			38,98	0,00				0,00		
18,50	0,00			43,07	0,00						
6,98	0,00			68,03	0,00						
8,01	0,00			72,55	55,05						
0,00	0,00			53,31	33,43						
0,00	0,00			44,56	31,96						
0,00	0,00			27,97	57,89						
				33,74	56,86						
				53,62	20,09						
				43,01	68,20						
				42,76	37,30						
				38,62	18,01						
				32,42	57,97						
				0,00	76,33						
				0,00	8,90						
				0,00	49,57						
				0,00	44,85						
				0,00	20,08						
				0,00	64,61						
					41,35						
					22,91						
					45,77						
					67,17						
					61,09						
					9,75						
					41,16						
					0,00						
					0,00						
					0,00						
					0,00						



**APÊNDICE D – Distribuição absoluta das falhas para esmalte**

Tabela 12 – Tipos de falhas e sua distribuição absoluta de acordo com o grupo experimental e o momento da análise da força de adesão

<b>Grupos</b>	<b>Falhas</b>	<b>24h</b>	<b>Env.</b>	<b>Total</b>
G1	A	19	22	41
	C-E	5	20	25
	C-R	3	0	3
	D	14	8	22
	M	2	4	6
G2	A	0	0	0
	C-E	0	0	0
	C-R	0	0	0
	D	66	40	106
	M	0	0	0
G3	A	21	34	55
	C-E	31	20	51
	C-R	1	2	3
	D	9	21	30
	M	2	0	2
G4	A	3	7	10
	C-E	0	0	0
	C-R	0	0	0
	D	37	37	74
	M	0	0	0
G5	A	21	1	22
	C-E	4	0	4
	C-R	1	0	1
	D	20	47	67
	M	0	0	0
G6	A	7	5	12
	C-E	0	0	0
	C-R	1	0	1
	D	25	40	65
	M	0	0	0

**APÊNDICE E - Dados obtidos no ensaio de microtração da dentina**

Tabela 15 – Dados de força de adesão (MPa) da dentina para cada grupo experimental

*(continua)*

<b>G7 24h</b>	<b>G7 Env</b>	<b>G8 24h</b>	<b>G8 Env</b>	<b>G9 24h</b>	<b>G9 Env</b>	<b>G10 24h</b>	<b>G10 Env</b>	<b>G11 24h</b>	<b>G11 Env</b>	<b>G12 24h</b>	<b>G12 Env</b>
80,05	91,42	0,00	0,00	58,44	55,68	11,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
115,21	70,14	0,00	0,00	61,04	79,57	13,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
94,85	41,92	0,00	0,00	80,32	41,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
114,02	30,57	0,00	0,00	72,02	69,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
79,27	110,95	0,00	0,00	70,91	61,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
77,48	92,23	0,00	0,00	90,93	96,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
82,47	60,09	0,00	0,00	52,13	41,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
92,20	81,18	0,00	0,00	45,70	59,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
106,31	92,17	0,00	0,00	69,07	75,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
69,88	56,42	0,00	0,00	68,89	57,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
61,75	112,76	0,00	0,00	68,35	65,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
85,87	29,72	0,00	0,00	58,02	54,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
58,79	0,00	0,00	0,00	31,74	46,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
74,72	0,00	0,00	0,00	45,31	73,44	0,00	41,79	0,00	0,00	20,95	0,00
72,73	0,00	0,00	0,00	25,17	77,57	0,00	24,56	0,00	0,00	26,05	0,00
47,94	79,94	0,00	0,00	74,23	38,46	0,00	0,00	0,00	0,00	15,59	0,00
52,22	90,20	0,00	0,00	53,72	37,43	0,00	0,00	22,51	0,00	20,25	0,00
76,15	27,76	0,00	0,00	55,01	52,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
81,67	36,21	0,00	0,00	0,00	67,55	34,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
79,34	59,31	0,00	0,00	0,00	62,61	34,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
44,61	73,25	0,00	0,00	118,00	55,39	16,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
69,95	82,59	0,00	0,00	79,18	78,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,74	61,85	0,00	0,00	115,67	41,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64,54	102,23	0,00	0,00	83,22	60,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
77,88	84,07	0,00	0,00	61,12	90,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
39,05	89,17	0,00	0,00	98,86	51,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
61,32	70,51	0,00	0,00	67,51	76,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
93,84	35,82	0,00	0,00	73,65	73,19	0,00	0,00	15,87	0,00	0,00	0,00
102,15	64,97	0,00	0,00	56,06	71,08	0,00	0,00	14,28	0,00	0,00	0,00
99,73	44,54	0,00	0,00	73,15	51,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
89,07	50,88	0,00	0,00	66,47	72,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
120,89	74,36	0,00	0,00	70,93	47,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
72,96	82,29	0,00	0,00	72,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
86,11	71,76	0,00	0,00	86,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
70,93	0,00		0,00	42,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
88,59	103,76		0,00	93,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
81,45	98,09		0,00	84,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
78,96	75,18		0,00	73,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
100,53	68,93		0,00	86,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
85,63	54,37		0,00	63,80		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	64,12			55,91		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	103,98			85,12		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 15 – Dados de força de adesão (MPa) da dentina para cada grupo experimental

<i>(conclusão)</i>											
<b>G7</b>	<b>G7</b>	<b>G8</b>	<b>G8</b>	<b>G9</b>	<b>G9</b>	<b>G10</b>	<b>G10</b>	<b>G11</b>	<b>G11</b>	<b>G12</b>	<b>G12</b>
<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>	<b>24h</b>	<b>Env</b>
	66,60			64,93		21,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	65,10			77,05		8,46	0,00	0,00	0,00		0,00
	35,89			58,47		30,17		0,00	0,00		
	99,24			73,12		9,09		0,00	0,00		
	87,44			24,40		0,00		0,00	0,00		
	70,01			75,18		0,00		0,00	0,00		
				87,86		0,00			0,00		
				87,62		0,00			0,00		
				60,71		0,00			0,00		
				82,02		0,00			0,00		
				26,52		0,00			0,00		
				131,83		0,00			0,00		
				73,09		0,00					
				30,13		0,00					
				58,12		0,00					
				56,02		0,00					
				28,59		0,00					
				0,00		0,00					
				0,00		0,00					
						0,00					
						0,00					

### APÊNDICE F – Distribuição absoluta das falhas para dentina

Tabela 18 – Tipos de falhas e sua distribuição absoluta de acordo com o grupo experimental e o momento da análise da força de adesão

<b>Grupos</b>	<b>Falhas</b>	<b>24h</b>	<b>Env.</b>	<b>Total</b>
G7	A	27	29	56
	C-D	7	6	13
	C-R	6	9	15
	D	0	4	4
G8	A	0	0	0
	C-D	0	0	0
	C-R	0	0	0
	D	43	40	83
G9	A	35	17	52
	C-D	15	12	27
	C-R	7	3	10
	D	4	7	11
G10	A	9	2	11
	C-D	0	0	0
	C-R	0	0	0
	D	55	42	97
G11	A	3	0	3
	C-D	0	0	0
	C-R	0	0	0
	D	45	54	99
G12	A	4	0	4
	C-D	0	0	0
	C-R	0	0	0
	D	39	44	83

**ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa - Local**

 **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**  
Av: Eng. Francisco José Longo, 777 - Jd. São Dimas  
CEP 12201-970 - F. (12) 3947-9028  
Fax (12) 3947-9010 / [suehy@fojo.unesp.br](mailto:suehy@fojo.unesp.br)

---



**CERTIFICADO**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**  
**Envolvendo Seres Humanos**

---

**CERTIFICAMOS**, que o protocolo nº **024/2008-PH/CEP**, sobre **“Efeito de agentes antioxidantes sobre a rugosidade superficial, a morfologia e a força de adesão do esmalte e da dentina clareados com peróxido de hidrogênio”** sob a responsabilidade de **ANA CAROLINA BOTTA MARTINS DE OLIVEIRA**, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, envolvendo seres humanos, conforme Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 13 de junho de 2008.

---

**Prof. Dra. Sueley Carvalho Mutti Naressi**  
**Coordenadora**