

**JÚLIA KESSYLA ALVES SILVA BEZERRA**

**Efeitos da redução no tempo de aplicação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e uso de bioprodutos catalisadores na alteração cromática, difusão, rugosidade e microdureza**

Araçatuba - SP  
2024



**JÚLIA KESSYLA ALVES SILVA BEZERRA**

**Efeitos da redução no tempo de aplicação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e uso de bioprodutos catalisadores na alteração cromática, difusão, rugosidade e microdureza**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (UNESP), como parte dos requisitos para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Titular André Luiz Fraga Briso

Araçatuba - SP  
2024

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente à Deus, que desde o meu nascimento fez-se presente ao longo da caminhada. Também à minha família, em especial, mãe, pai, irmãs, avós e tias, obrigado por nunca descreditarem do meu sonho e ter me ajudado a vencer mais uma vez. Por fim, não menos importante, meu esposo, que me fortaleceu e não me deixou só mesmo estando longe. Todos me completam, amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

*A Deus*, em primeiro lugar em tudo na minha vida! Senhor obrigado por me fortalecer e guiar meus passos durante toda a caminhada. Tudo que sonho e realizo é para que Teu nome seja louvado. Todos os dias foram um milagre e providências, desde o vestibular até aqui, na conclusão deste sonho de menina. E desejo que assim seja até meu último suspiro.

*A minha família*, mãe, pai, irmãs, tias e avós, obrigada por nunca descreditarem dos meus sonhos e por toda a luta de cada um para que eu chegasse até aqui. Foram muitos dias de saudades, de comemorações sem vocês. A distância que machuca, tem finalmente data para acabar. Não há palavras que possam ser escritas que expressam a tamanha gratidão de pertencer a vocês e de saber que onde eu estiver todos estarão.

*A meu esposo*, que no início da escrita do trabalho ainda era ‘meu noivo’. Obrigada por todo o apoio e força durante a caminhada. Sua força e perseverança foram essenciais para me fortalecer. Muitas datas não vividas, saudades, emoções, comemorações em branco que hoje se reverterem em gratidão e alegria por retornar a um novo lar com você.

*A Ana Catarina*, “minha cachorrinha”, companheira e fiel, foi a melhor decisão que eu poderia ter tomado durante toda a caminhada. Sempre um motivo para voltar pra casa e ainda sair dela, mesmo que animal, cuidou da mente e do coração. Minha ‘munitinha’ perfeita.

*A meu grupo de amigos* de faculdade que me ajudaram a suportar o processo, lapidaram a boa convivência e diminuíram a ansiedade do crescimento. Todos amadurecemos juntos e vivenciamos as conquistas pessoais e acadêmicas de cada um, onde todos os dias foram de comemoração e qualquer centavo no bolso era motivo de tomar um ‘cafezinho’ da tarde para brindar uma vitória.

*A Prof. Alessandra Marcondes Aranega*, que cuidou da minha mente e coração como se eu fosse filha. Obrigada por todo carinho, amor, cada palavra de aconchego, cada vibração pelas vitórias alcançadas. Todos os abraços carinhosos foram uma recarga de energia. Tudo que aprendi levo guardado não só no coração, mas na alma, experiências de alegrias compartilhadas de uma trajetória tão leve ao seu lado.

*Ao Grupo de Educação Tutorial PET* que me proporcionou o ampliamiento da visão diante do meio acadêmico, demandas institucionais e pessoais de alunos da graduação. A participação ativa no grupo me proporcionou amadurecer, aprender com os erros, desenvolver novas habilidades e aprimorar as que já me acompanhavam. As amizades conquistadas e nunca perdidas, as experiências como aluno protagonista e a convivência em grupo foram essenciais para o crescimento acadêmico e pessoal.

*A Prof. Lara Maria Bueno Esteves*, carinhosamente ‘minha co-orientadora’. Agradeço imensamente por me encorajar a vencer meus medos. Com você aprendi que no fim “ dá tudo certo e que tá tudo bem”. Obrigada por todos os ensinamentos, paciência, apoio, ajuda e claro, todo o carinho e a liberdade de poder ser eu mesma ao seu lado.

*Ao meu Orientador Prof. André Luiz Fraga Briso* que me proporcionou a experiência da iniciação científica e apurou meu senso crítico à tantos bombardeios de informação nos dias de hoje. Admiro seu amor pela profissão e agradeço por todo conhecimento, carinho, compreensão. Como já havia lhe dito, o senhor é um marco em minha trajetória, que será lembrado e homenageado em toda minha caminhada futura.

*A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,* na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem e do vice-diretor Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra.

*“Porque Dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém.”*

Romanos 11:36.

## RESUMO

BEZERRA, J. K. A. S. **Efeito da redução do tempo de aplicação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e uso de bioprodutos catalisadores na alteração cromática, difusão, rugosidade e microdureza.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Diante dos efeitos colaterais da terapia clareadora, faz-se necessário estratégias que atuem no tratamento. Para tanto, comparou-se o tratamento clareador tradicional (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%), com a terapia-teste, baseada na redução do tempo de aplicação, uso de Scaffolds e de um primer catalisador a base de peroxidase. As variáveis de resposta foram: alteração cromática (<sup>E00</sup> e <sup>WID</sup>), difusão do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, rugosidade e microdureza do esmalte. 60 discos foram divididos em 4 grupos (n=15): Sem tratamento (C), Gel 45 minutos (G45), Gel 15 minutos (G15), Gel 15 minutos + Scaffold + Primer (GSP). A quantificação da difusão foi realizada na primeira sessão (T1) e a análise espectrofotométrica 24 horas após cada sessão (T1, T2, T3) e 15 dias após o término (T4). Outros 60 discos bovinos (n=15), foram polidos, receberam os mesmos tratamentos e foram submetidos à análise de rugosidade com um perfilômetro (Ra/μm) e à microdureza Knoop. As avaliações foram realizadas antes e após a terapia clareadora. Observou-se que GSP apresentou a menor quantidade de difusão trans-amelodentinária. Em <sup>E00</sup>, GSP diferiu de G15 e C no final do tratamento. Em <sup>WID</sup>, G45 apresentou o maior índice clareador, entretanto, GSP também apresentou considerável potencial clareador, diferindo de G15 e C. Apenas os grupos GSP e C não alteraram os valores de microdureza, diferindo dos demais grupos em T2, fato também observado na análise da rugosidade. Constatou-se que a associação do gel clareador com os bioprodutos (GSP) potencializou o efeito clareador e limitou os efeitos adversos, tornando esta terapia-teste promissora.

**Palavras-chave:** clareamento dental; peroxidase; microdureza superficial.

## ABSTRACT

BEZERRA, J. K. A. S. **Effect of reducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> application time and use of catalyst bioproducts on chromatic change, diffusion, roughness and microhardness.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Given the side effects of whitening therapy, strategies that act on the treatment are necessary. To this end, the traditional whitening treatment (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>35%) was compared with the test therapy, based on reducing application time, use of scaffolds and a peroxidase-based catalyst primer. The response variables were: chromatic change (<sup>E00</sup> and <sup>WID</sup>), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diffusion, enamel roughness and microhardness. 60 discs were divided into 4 groups (n=15): No treatment (C), Gel 45 minutes (G45), Gel 15 minutes (G15), Gel 15 minutes + Scaffold + Primer (GSP). Diffusion quantification was performed in the first session (T1) and spectrophotometric analysis 24 hours after each session (T1, T2, T3) and 15 days after the end (T4). Another 60 bovine discs (n=15) were polished, received the same treatments and were subjected to roughness analysis with a profilometer (Ra/μm) and Knoop microhardness. Assessments were carried out before and after bleaching therapy. It was observed that GSP presented the lowest amount of trans-amelodentinal diffusion. At <sup>E00</sup>, GSP differed from G15 and C at the end of treatment. In <sup>WID</sup>, G45 presented the highest lightening index, however, GSP also presented considerable whitening potential, differing from G15 and C. Only the GSP and C groups did not change the microhardness values, differing from the other groups in T2, a fact also observed in the analysis of roughness. It was found that the association of the whitening gel with bioproducts (GSP) enhanced the whitening effect and limited adverse effects, making this test therapy promising.

**Keywords:** tooth whitening; peroxidase; surface microhardness.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dentes bovinos com raízes seccionadas na junção amelocementária	16
Figura 2 - Espécimes cortados em discos de esmalte e dentina com 5,7 mm de diâmetro	17
Figura 3 - Desenho esquemático das etapas para avaliação de rugosidade	18
Figura 4 - Desenho esquemático das etapas para avaliação de microdureza superficial	18
Figura 5 - Desenho esquemático das etapas para realização da análise de cor em espectrofotômetro de bancada	19
Figura 6 - Desenho esquemático das etapas para coleta de peróxido de hidrogênio difundido	22

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Divisão dos grupos experimentais e tratamentos realizados

20

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão de alteração cromática e índice de clareamento ao longo das sessões de clareamento	26
Tabela 2 - Média e desvio padrão da difusão trans-amelodentinária nos grupos analisados	27
Tabela 3 - Rugosidade média e desvio padrão antes e após a terapia clareadora	28
Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão de microdureza interna em função das profundidades	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgramas
C	Grupo Controle
Cm	Centímetro
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
G15	Grupo Gel - 15 minutos
G45	Grupo Gel - 45 minutos
GSPL	Grupo Scaffold, Primer Catalisador - 15 minutos
H2O2	Peróxido de Hidrogênio
HP35%	Peróxido de Hidrogênio 35%
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
HRP	Horseradish Peroxidase
kV	Quilovoltagem
Mg	Miligramas
ML	Mililitros
Mm	Milímetros
mV	Milivolts
Nm	Nanômetros
OH	Hidroxila
°C	Graus Celsius
PCL	Policaprolactona
PrCa	Primer Catalisador
ScP	Scaffold de Nanofibras
ΔE	Alteração Cromática
ΔWID	Índice de Clareamento
µl	Microlitros
µm	Micrômetros

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 PROPOSIÇÃO	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Preparação dos espécimes	16
3.2 Aplainamento e polimento da superfície	17
3.3 Rugosidade inicial	17
3.4 Microdureza superficial inicial	18
3.5 Pigmentação das amostras	18
3.6 Leitura de cor - padronização	19
3.7 Divisão dos grupos	20
3.8 Confeção do Scaffold	20
3.9 Tratamento clareador	21
3.10 Quantificação da difusão de pH	22
3.11 Análise da alteração cromática	23
3.12 Rugosidade final	23
3.13 Microdureza superficial final	23
3.14 Análise estatística	24
4 RESULTADOS	25
4.1 Análise de alteração cromática	25
4.2 Análise da difusão trans-amelodentinária	26
4.3 Rugosidade	27
4.4 Análise da microdureza superficial	28
5 DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento clareador tornou-se cada vez mais popular entre aqueles que procuram se encaixar nos padrões sociais, sendo realizado de forma rápida, eficaz, segura e de custo-benefício atrativo<sup>1,2</sup>. Esta terapia pode ser realizada pelo cirurgião-dentista, à qual denomina-se técnica in-office ou de consultório, tendo como princípio ativo no tratamento o peróxido de hidrogênio.

A ação consiste na reação das Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), que são liberadas pelo produto clareador quando em contato com a superfície dental e as moléculas cromóforas ali presentes. As EROs promovem a clivagem das cadeias carbônicas cromóforas, proporcionando uma alteração cromática e conseqüentemente aparência mais clara<sup>3-5</sup>.

Entretanto, alguns efeitos colaterais são comuns e incômodos à quem recebe a terapia clareadora, como a sensibilidade dentária, causada pela difusão do  $H_2O_2$ . E ainda, aumento da rugosidade, diminuição da dureza e alterações na morfologia superficial do esmalte<sup>6,7</sup>. Tais efeitos adversos estão relacionados ao tempo de exposição do gel clareador e sua concentração<sup>8-12</sup>.

Os géis que contém de 30-40% de concentração de  $H_2O_2$  proporcionam efeitos tóxicos ao tecido pulpar, tendo células residuais, as free-  $H_2O_2$ , com potencial de interação com o tecido pulpar através da difusão pelos tecidos mineralizados, podendo causar lesões de diferentes graus de severidade<sup>11,12</sup>. Desta forma, acredita-se que o aumento da reatividade do peróxido de hidrogênio com as estruturas dentárias e a diminuição do tempo de aplicação possa reduzir estas células residuais, influenciando na saúde do tecido pulpar e na resposta clareadora<sup>13-15</sup>.

Estudos vêm sendo realizados para condicionar a reatividade das EROs de forma mais eficaz, utilizando agentes catalisadores enzimáticos para aumentar a liberação destas, como a OH-<sup>13-15</sup>. A enzima Horseradish Peroxidase (HRP) é uma das mais promissoras, vindo de fonte vegetal, da raiz da *A Armoracia rusticana*, a qual possui centro metálico  $Fe^{3+}$  que proporciona a ruptura homolítica do peróxido de hidrogênio<sup>16</sup>. Observou-se redução significativa da difusão de free-  $H_2O_2$  pelos tecidos dentinários e aumento da alteração cromática pelo tratamento clareador através da adição do HRP ao espessante do gel clareador<sup>14</sup>.

Assim também, com adição de 10mg/mL da enzima ao gel de 35% de peróxido de hidrogênio<sup>12</sup>, houve a redução da citotoxicidade transamelodentinária, viabilidade celular aumentada em 34% e eficácia estética da terapia clareadora em 24%, tais dados obtidos ainda após a primeira sessão do tratamento. Mesmo que os resultados obtidos até então tenham sido promissores, as células presentes no tecido pulpar ainda assim foram sensibilizadas pelo estresse oxidativo do peróxido de hidrogênio<sup>12</sup>.

Para tanto, o desenvolvimento de técnicas inovadoras tornou-se necessário para diminuir o estresse oxidativo durante a terapia. Desta forma, foram desenvolvidos scaffolds poliméricos à base de hidroxipropil metilcelulose (HPMC à 12,5%, com electrospinning de 45'), com nanopartículas que simulam a nanomorfologia estrutural do tecido dentário e potencializa a degradação das free- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>16,17</sup>.

O uso dos scaffolds pode-se tornar uma opção promissora, visto que sua utilização prévia sobre o esmalte dentário promoveu maior alteração cromática e melhora de 72% da viabilidade celular em relação ao grupo que teve o tratamento clareador realizado de forma convencional<sup>17</sup>. Assim, temos que, os scaffolds possuem a capacidade de degradar o peróxido de hidrogênio residual limitando a entrada destes nas estruturas dentárias, tendo por fim tratamentos clareadores mais seguros.

Inovando para obtenção de melhores resultados e biologicamente seguros, desenvolveu-se um estudo in-vitro com a utilização do gel clareador com 35% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associado ao uso de primer catalisador e scaffold, com diminuição do tempo de aplicação do gel de 45 minutos (terapia convencional) para 15 minutos, tendo conquistado a redução de 60% da citotoxicidade pulpar em relação ao método clareador tradicional<sup>18</sup>.

Para tanto, a alteração cromática e difusão transamelodentinária das moléculas residuais podem estar diretamente relacionadas à redução do tempo de aplicação do gel clareador e o uso de tais bioprodutos para resultados satisfatórios<sup>11-13</sup>. De tal forma que, os objetivos principais deste estudo são observar os resultados laboratoriais obtidos através da redução do tempo de aplicação do gel clareador de 45 minutos para 15 minutos, associado ao uso de um Scaffold polimérico de nanofibras e um primer polimérico catalisador e sua influência na alteração cromática, diminuição da difusão transamelodentinária do peróxido de hidrogênio, microdureza superficial e transversal e rugosidade do esmalte.

## 2 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito provocado pelo tratamento tradicional com 45 minutos de exposição ao gel a base de peróxido de hidrogênio a 35% com as terapias-teste, baseadas na redução do tempo de aplicação do produto para 15 minutos, no uso de um Scaffold polimérico de nanofibras e um primer polimérico catalisador, observando suas influências na microdureza e rugosidade superficial, alteração cromática e difusão.

As hipóteses nulas deste estudo são:

- a) O uso dos biomateriais Scaffold e Primer Catalisador não alteraria a efetividade clareadora;
- b) O uso dos biomateriais Scaffold e Primer Catalisador limitaria a difusão de  $H_2O_2$  pelos tecidos;
- c) O uso dos biomateriais Scaffold e Primer Catalisador não alteraria a rugosidade;
- d) O uso dos biomateriais Scaffold e Primer Catalisador não alteraria a microdureza superficial.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Anteriormente à realização desta pesquisa, o projeto foi submetido à Comissão de Ética em Pesquisa do uso de animais. Somente após foram iniciados os procedimentos laboratoriais em dentes bovinos.

#### 3.1 Preparação dos Espécimes

Foram obtidos 200 incisivos bovinos permanentes de novilhos com idade entre 24 e 30 meses, que passaram por testes de padronização de modo que se obteve, ao final, 120 discos (n=15)<sup>19</sup>. Dentes com manchas, desgaste excessivo da incisal, alterações morfológicas da coroa e trincas no esmalte não foram selecionadas. Estes dentes foram limpos manualmente com curetas e armazenados em solução de Timol 0,1% para evitar proliferação bacteriana.

Após a limpeza, os dentes tiveram as raízes separadas da coroa na junção amelocementária. Em seguida, as coroas foram fixadas em um dispositivo ligado à plataforma de uma furadeira de bancada (Ferrari Modelo FGC 16) e com uma ponta diamantada para corte de vidro (Dinser Ferramentas Diamantadas Ltda.), sob refrigeração de água, foram obtidos discos de esmalte/dentina com 5,7 mm de diâmetro a partir do terço médio da face vestibular.

Em seguida, a superfície dentinária dos discos foi regularizada manualmente com lixas de óxido de alumínio de granulação 400 e 600 (T469-SF-Noton, Saint-Gobam Abrasivos Ltda., Jundiaí, SP, Brasil), até que estivessem com a espessura padronizada de 5,7mm medidos em paquímetro digital (modelo 500-144B, Mitutoyo Sul América Ltda, SP, Brasil).

**Figura 1- Dentes bovinos com raízes seccionadas na junção amelocementária**



Fonte: Leopoldo, 2023

**Figura 2- Espécimes cortados em discos de esmalte e dentina com 5,7 mm de diâmetro**



Fonte: Leopoldo, 2023

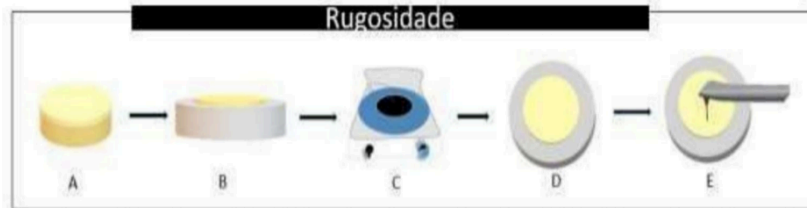
### **3.2 Aplainamento e polimento da superfície**

Os espécimes foram fixados em bases de acrílico, com o esmalte voltado para cima e 1mm acima do nível desta base, com intuito de facilitar o polimento dos discos. Então, para o aplainamento e polimento da superfície a ser estudada dos discos, foi utilizado uma politriz (Aropol E- Arotec Indústria e Comércio Ltda, Cotia, São Paulo, Brazil), empregando discos abrasivos nas granulações 600 e 800 por 2 minutos e 1200 por 4 minutos, em baixa velocidade e sob refrigeração a água, a fim de proporcionar uma superfície mais apta para análise nas seguintes etapas. O polimento final foi realizado com discos de feltro umedecidos em pasta diamantada de 1 $\mu$ m (Arotec S.A. Indústria e Comércio Ltda, Cotia, São Paulo, Brazil), durante 5 minutos.

### **3.3 Rugosidade inicial**

A rugosidade da superfície foi medida com um perfilômetro (modelo SJ-401, Mitutoyo, Kawasaki, Japão), calibrado previamente às leituras. Cada corpo de prova foi fixado em bases de acrílico e a agulha do medidor foi posicionada na superfície do corpo de prova. Para o registro das medidas de rugosidade, a agulha se move a uma velocidade constante de 0,05 mm/seg com uma força de 0,7 mN. Os valores de corte foram fixados em 0,25 mm e a rugosidade superficial foi caracterizada pelos valores de  $R_a/\mu$ m. Assim, três leituras foram realizadas e a média foi calculada, de modo que se obteve 60 espécimes padronizados para o estudo<sup>22</sup>.

**Figura 3 - Desenho esquemático das etapas para avaliação de rugosidade**



A: confecção dos discos de dentes bovinos; B: fixação dos discos em placas de acrílico com cera pegajosa; C: polimento da superfície dos discos; D: discos prontos para leitura; E: análise de Rugosidade com perfilômetro de velocidade constante de 0,05mm/seg com força de 0,7mN.

Fonte: Autor, 2024

### 3.4 Microdureza superficial inicial

A microdureza do esmalte foi verificada em microdurômetro (HMV-2000 SHIMADZU, Maryland, USA), com penetrador tipo Knoop, com carga estática de 25 gramas por 5 segundos. Foram realizadas 03 indentações com distância de 100 $\mu$ m entre elas. Obtidos esses dados, 60 espécimes com microdureza mais próxima da média foram selecionados<sup>20,21</sup>.

**Figura 4 - Desenho esquemático das etapas para avaliação de microdureza superficial**



A: confecção dos discos de dentes bovinos; B: Fixação dos discos em placas de acrílico com cera pegajosa; C: polimento da superfície dos discos; D: discos prontos para leitura; E: análise de Microdureza com microdurometro Knoop, carga de 25g por 5 segundos.

Fonte: Autor, 2024

### 3.5 Pigmentação das amostras

Outros 60 espécimes foram armazenados em tubos de polipropileno (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) contendo 1ml de infusão de chá preto à temperatura ambiente. A infusão foi feita empregando 1,6g de chá preto (Chá Matte Leão, Curitiba, PR, Brasil) para cada 100 ml de água destilada. O processo de pigmentação foi monitorado durante 6 dias, sendo realizada a troca da solução diariamente<sup>23</sup>.

### 3.6 Leitura de cor - padronização

Como segunda padronização, foi realizada a mensuração dos eixos  $L^*$  e  $b^*$ , cabendo destacar que a axial “L” é conhecida como luminosidade e se estende de 0 (preto) a 100 (branco perfeito) e a coordenada “b” representa a quantidade de amarelo (valores positivos) e de azul (valores negativos). Após o período destinado à pigmentação e lixiviação de 48 horas em água destilada, foi realizada a mensuração dos eixos  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

Foi realizada a leitura de cores com o posicionamento dos discos em uma matriz de silicone branca, deixando apenas a superfície do esmalte exposta. A análise foi realizada em espectrofotômetro de reflexão de luz ultravioleta/visível (Ultraviolet Visible Model UV- 2450; Shimadzu). Esse procedimento foi realizado para distribuir os espécimes com valores semelhantes entre os grupos do estudo, obtendo-se 120 amostras padronizadas<sup>19</sup>, respeitando a tolerância de 5%.

**Figura 5 - Desenho esquemático das etapas para realização da análise de cor em espectrofotômetro de bancada**



A: discos de dentes bovinos; B: adaptação do disco no suporte para leitura; C: A análise foi realizada em espectrofotômetro de reflexão de luz ultravioleta/visível (Ultraviolet Visible Model UV-2450; Shimadzu) para a mensuração dos eixos  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$

Fonte: Autor, 2024

### 3.7 Divisão dos grupos

Os 60 espécimes selecionados foram divididos aleatoriamente em 4 grupos ( $n=15$ ), recebendo os tratamentos apresentados no quadro 1. Ao final do tempo de exposição aos tratamentos testes, os corpos-de-prova foram imersos em 2mL de saliva artificial à  $37^{\circ}\text{C}$ <sup>19</sup>.

**Quadro 1 - Divisão dos grupos experimentais e tratamentos realizados**

<b>GRUPO</b>	<b>SIGLA</b>	<b>TRATAMENTOS</b>
Sem tratamento	<b>C</b>	Não foi realizado tratamento clareador. Os espécimes permaneceram imersos em 2mL de saliva artificial* por todo o tempo do trabalho, com trocas da solução a cada 24h.
Grupo 1 – Gel 45'	<b>G45</b>	Gel com 35% de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *** aplicado por 45 minutos (3x15 min) sobre o esmalte. O produto clareador foi aplicado na quantidade de 0,06mL, foi realizada a troca do gel por 2 vezes até que se obtenha os 45 minutos de exposição, conforme orientação do fabricante do gel clareador.
Grupo 2 – Gel 15'	<b>G15</b>	Gel com 35% de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *** aplicado por 15 minutos sobre o esmalte. Para tanto, o produto clareador foi aplicado na quantidade de 0,06mL e aguardado o tempo de 15 minutos de exposição.
Grupo 3 – Gel, Scaffold, Catalizador 15'	<b>GSP</b>	Aplicação do ScP + PrP + aplicação do gel clareador comercial com 35% de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> *** por 15 minutos. Inicialmente foram confeccionados os Scaffolds e adaptados sobre a superfície dos corpos de prova. Em seguida, foram incorporados 10mg de enzima peróxidase ao espessante do gel clareador que seguiu sua manipulação conforme as instruções do fabricante (3:1). Assim, o produto clareador foi aplicado na quantidade de 0,06mL e aguardado o tempo de 15 minutos de exposição.

\*(1,5 mmol/L de Ca; 50 mmol/L de KCl; 0,9 mmol/L de PO<sub>4</sub>; 20 mmol/L de tampão TRIS tri-hidroximetil-aminometano], em pH 7,0)<sup>26</sup> /

/ \*\*\* Whitess HP 35% - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, Santa Catarina, Brasil

Fonte: Autor, 2024

### 3.8 Confeção do Scaffold

A confecção dos Scaffolds Poliméricos (ScP) foi realizada no laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr-Unesp). Para tanto, uma solução de Policaprolactona (PCL, Sigma-Aldrich Corp.) foi preparada com uma concentração de 12,5% m/v, associada à solução de clorofórmio/dimetilformamida (80:20) (Labsynth Produtos para laboratório, São Paulo, SP, Brasil). A solução inicialmente obtida foi transferida para uma seringa esterilizada de 5 mL (Luer Lock BD, Curitiba, PR, Brasil) com agulha hipodérmica de aço inoxidável de calibre de 18 gauge (Bunzl Saúde/Labor Import, São Paulo, SP, Brasil), a qual foi conectada num equipamento de injeção automática (KDSscientific, Holliston, MA, EUA), regulado para exercer uma velocidade de injeção de

0,5mL/h. A voltagem da fonte de alta-tensão foi estabelecida em 12 kV e a distância entre a ponta da agulha e o coletor foi de 15 cm. Com o intuito de obter uma malha que apresente as nanofibras produzidas distribuídas de forma aleatória, um coletor plano de alumínio foi posicionado perpendicularmente à seringa e, decorrido os 45 minutos de eletrofiação, a malha de nanofibras é finalizada<sup>18</sup>.

Para a desinfecção da malha de nanofibra, antes da aplicação nos discos, esta foi colocada em placa Petri de vidro e imersa por 10 minutos em álcool 50%; por 20 minutos em álcool 70%, com três ciclos; 10 minutos em Tampão fosfato-salino, com dois ciclos, com posterior secagem em temperatura ambiente por 48 horas, antes de sua utilização.

Em seguida, para a utilização dos ScPs (malha de nanofibras), esta foi cuidadosamente colocada na bancada de trabalho, onde amostras circulares do produto (6 mm de diâmetro) foram obtidas com punch dérmico (Kolplast Ltda. Itupeva, São Paulo, Brasil). Após posicionar os discos de esmalte/dentina sobre uma placa de cera rosa utilidade nº 7 (Lysanda Produtos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP), os ScPs foram aplicados sobre o esmalte, onde foram mantidos em posição com uso de Top Dam (FGM), seguidos da aplicação de gel clareador conforme a descrição dos grupos.

### **3.9 Tratamento clareador**

Os espécimes foram submetidos a 3 sessões clareadoras com os respectivos protocolos experimentais de cada grupo conforme descrito no quadro 1.

Para tanto, foi utilizado o produto Whiteness HP (FGM Produtos Odontológicos) a base de peróxido de hidrogênio a 35%. O gel é disposto em compartimentos distintos, contendo o peróxido e o agente espessante, manipulados manualmente conforme orientações do fabricante (3:1). É importante ressaltar que o gel clareador foi aplicado em um volume padronizado de 0,06 mL com pipeta específica para líquidos viscosos (Microman E, Gilson Inc. Middleton WI, EUA) e o tempo de permanência seguiu o determinado para cada grupo experimental.

### 3.10 Quantificação da difusão de pH

Para remoção da smear layer foi aplicada solução de EDTA 17,5% por 1 minuto e em seguida, os discos foram lavados com água deionizada por 10 segundos e limpos em ultrassom Branson 2210 (Danbury, Connecticut, USA) por 10 minutos para remoção dos resíduos.

Desta forma, para quantificação da difusão de pH, os discos previamente ao tratamento clareador, foram posicionados nas CPAs em placas acrílicas de 24 compartimentos (Costar Corp., Cambridge, MA, EUA) contendo 1ml de solução tampão de acetato a 2 M (pH 4,5). A superfície dentinária permaneceu em contato com essa solução.

Em seguida, os espécimes posicionados receberam o tratamento clareador conforme descrito no quadro 1 e, imediatamente após o clareamento, 100 µl da solução tampão foram transferidos para tubos de ensaio contendo 100 µl de corante violeta leuco cristal (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) a 0,5 mg/ml; 50 µl de peroxidase extraída 1 de rábano silvestre (Sigma Chemical Co.) a 1mg/mL, e 2,750 ml de água destilada.

Este método baseia-se na reação do pH com o corante violeta leucocristal, catalisado pela enzima peroxidase. A coloração dessa mistura varia de intensidade de acordo com a quantidade de peróxido, tornando possível avaliar a quantidade de peróxido difundida. A densidade óptica da solução azul resultante será mensurada em espectrofotômetro de Reflexão Ultravioleta Visível (UV-2450, Shimadzu, Kyoto, Japão) em comprimento de onda de 596 nm. Uma curva de calibração, com valores de absorbância de soluções de pH de concentrações conhecidas, foi utilizada para converter os valores da densidade óptica obtidos em valores equivalentes a µg de peróxido por mL de solução tampão acetato<sup>13</sup>.

**Figura 6- Desenho esquemático das etapas para coleta de peróxido de hidrogênio difundido**



A: discos de dente bovino; B: montagem dos discos em CPAs; C: adaptação das CPAs em placas de cultura; D: realização da coleta da amostra após o procedimento clareador; E: incorporação da aliquota nas soluções; F: análise em espectrofotômetro de reflexão de luz ultravioleta/visível (Ultraviolet Visible Model UV-2450; Shimadzu)

### 3.11 Análise da alteração cromática

Os espécimes foram submetidos à análise espectrofotométrica 24 horas após cada sessão clareadora. Os valores obtidos foram comparados aos valores iniciais<sup>22</sup>.

$$\Delta E_{00}^{E00}$$

Além disso, foi realizado o cálculo de alteração cromática utilizando o método de cor CIED2000. Este método visa solucionar diferenças entre as avaliações de cor feitas pelos olhos humanos e os instrumentos de medição, causadas pelas diferenças entre a forma e o tamanho dos limites de percepção de cor. Assim, ajustes específicos foram realizados na fórmula, considerando as diferenças de luminosidade  $\Delta L^*$ , diferença de saturação  $\Delta C^*$  e tonalidade  $\Delta H^*$  pela utilização dos coeficientes SL, SC e Sh respectivamente. Ainda, o  $\Delta R$  é um termo de interação entre as diferenças de saturação e matiz. Desta forma, a leitura após o clareamento dental foi comparada com a leitura inicial através do cálculo abaixo<sup>22</sup>.

$$\Delta E_{00} = \{[\Delta L/(KLSL)]^2 + [\Delta C/KCSC]^2 + [\Delta h/(KhSh)]^2 + \Delta R\}^{1/2}$$

Índice de Clareamento (<sup>WID</sup>)

O índice de clareamento (<sup>WID</sup>) é uma formulação linear simples, obtida usando os valores das três coordenadas cromáticas do CIELab. O índice foi calculado utilizando a seguinte fórmula<sup>22</sup>:

$$^{WID} = (0,511 \times L^*) - (2,324 \times a^*) - (1,100 \times b^*)$$

Valores positivos do índice <sup>WID</sup> indicam maior efeito clareador da amostra, enquanto valores baixos e até negativos indicam menor efeito clareador da amostra.

### 3.12 Rugosidade final

A análise de rugosidade após o tratamento clareador foi realizada conforme descrito na rugosidade inicial.

### 3.13 Microdureza superficial final

A análise de microdureza após o tratamento clareador foi realizada conforme na microdureza inicial.

### **3.14 Análise estatística**

Após a tabulação, análise descritiva e exploratória dos dados foi verificada e atendida as pressuposições normalidade e homogeneidade. Desta forma, para a análise de microdureza superficial, rugosidade e alteração cromática foi utilizado o teste Anova Dois Fatores com Medidas Repetidas para avaliar os grupos em função dos tempos. Além disso, para a análise de difusão de Peróxido de Hidrogênio foi utilizado o teste Anova Um Fator. Todos os dados foram avaliados através do programa estatístico SigmaPlot 12.0, em nível de significância a 5%.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Análise de alteração cromática

De acordo com os resultados obtidos na tabela 1, os valores encontrados de  $E_{00}^{\text{E}}$  no grupo controle (C) se manteve estável em todos os tempos (T1, T2, T3), não tendo alterações significativas. Entretanto, o grupo que recebeu a terapia clareadora por 45 minutos sem o uso do scaffold polimérico (G45) obteve valores de alteração cromática superiores em todas as etapas, porém, logo em seguida o grupo de 15 minutos de aplicação com o uso dos bioprodutos poliméricos (GSP) teve valores satisfatórios, o que difere do grupo de 15 minutos de tratamento clareador sem o uso do scaffold (G15).

Assim, a maior alteração cromática observada ocorreu quando o gel foi aplicado por 45 minutos, tanto associado ou não aos bioprodutos poliméricos, além do mais, o grupo de 15 minutos associado ou não ao scaffold polimérico também obteve resultados satisfatórios.

Em  $W_{id}^{\text{W}}$ , o maior índice clareador foi encontrado no grupo G45, logo em seguida o grupo GSP também apresentou resultados consideráveis, diferindo do grupo C e G15.

**Tabela 1- Valores médios e desvio padrão de alteração cromática e índice de clareamento ao longo das sessões de clareamento**

Delta E00													
		T1		T2		T3		T4					
C	Sem Luz	0,64	(±0.3)	Ca	0,89	(±0.3)	Ca	0,87	(±0.3)	Ca	0,89	(±0.3)	Ca
G45	Sem Luz	5,74	(±1.0)	Ac	8,59	(±1.4)	Ab	12,55	(±3.7)	Aa	12,30	(±3.8)	Aa
G15	Sem Luz	3,74	(±0.8)	Bc	7,27	(±0.1)	Bb	10,48	(±0.7)	Ba	10,05	(±0.5)	Ba
GSP	Sem Luz	5,49	(±1.3)	<sup>AB</sup>	9,86	(±1.3)	<sup>AB</sup>	13,87	(±3.1)	Aa	13,99	(±3.0)	Aa

Delta WID													
		T1		T2		T3		T4					
C	Sem Luz	0,72	(±0.5)	Da	0,84	(±0.5)	Ca	0,91	(±0.5)	Da	0,75	(±0.3)	Da
G45	Sem Luz	9,94	(±1.7)	Ac	13,25	(±1.6)	Ab	19,40	(±3.1)	Aa	19,19	(±3.1)	Aa
G15	Sem Luz	6,14	(±0.7)	Cc	9,19	(±0.7)	Bb	14,17	(±0.7)	Ca	13,94	(±0.7)	Ca
GSP	Sem Luz	7,99	(±1.3)	Bc	13,50	(±1.5)	Ab	17,28	(±1.4)	Ba	16,98	(±1.2)	Ba

Letras maiúsculas iguais (em colunas) indicam que não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos antes do tratamento clareador ( $p > 0.05$ ); Letras minúsculas diferentes (em linhas) indicam discordâncias estatísticas de cada grupo em relação ao tempo, antes e após o tratamento.

Fonte: Autor, 2024

## 4.2 Análise da difusão trans-amelodentinária do PH

Os dados coletados para a avaliação da difusão do peróxido de hidrogênio através das estruturas dentinárias são referentes à primeira sessão clareadora (T1). O melhor resultado obtido, assim como demonstrado na tabela 2, foi o grupo receptor de gel clareador por 15 minutos associado ao uso do scaffold polimérico (GSP).

**Tabela 2 - Média e desvio padrão da difusão trans-amelodentinária nos grupos analisados**

DIFUSÃO	
CONTROLE	0,11 (0,09) D
CONTROLE GEL	6.61 (0,56) A
GEL 15	3.42 (0,50) B
GEL SCAFFOLD	2.03 (0,11) C

Letras maiúsculas iguais (em colunas) indicam que não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos antes do tratamento clareador ( $p > 0.05$ ); Letras minúsculas diferentes (em linhas) indicam discordâncias estatísticas de cada grupo em relação ao tempo, antes e após o tratamento.

Fonte: Autor, 2024

## 4.3 Rugosidade

De acordo com valores da tabela 3, o grupo controle (C) foi o único que manteve os valores de rugosidade inalterados, quando comparados valores de rugosidade inicial e final, os demais grupos obtiveram diferenças estatísticas antes do tratamento e ao final deste.

Os valores obtidos na avaliação da rugosidade final foram satisfatórios no grupo que recebeu a terapia clareadora por 15 minutos associado ao uso do scaffold polimérico (GSP), em seguida, bons resultados também foram observados no grupo sem o uso do bioproduto (G15).

**Tabela 3 - Rugosidade média e desvio padrão antes e após a terapia clareadora**

RUGOSIDADE		
	INICIAL	FINAL
CONTROLE	0,044(0,002) Aa	0,044 (0,002) Aa
CONTROLE GEL	0,043 (0,002) Aa	0,048 (0,001) Bb
GEL 15	0,044 (0,002) Aa	0,046 (0,002) ABb
GEL SCAFFOLD	0,044 (0,002) Aa	0,045 (0,002) Aa

Letras maiúsculas iguais (em colunas) indicam que não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos antes do tratamento clareador ( $p>0.05$ ); Letras minúsculas diferentes (em linhas) indicam discordâncias estatísticas de cada grupo em relação ao tempo, antes e após o tratamento.

Fonte: Autor, 2024

#### 4.4 Análise de microdureza superficial

De acordo com os valores encontrados na tabela 4, todos os grupos apresentaram valores de microdureza superficial semelhantes. O que difere dos resultados encontrados ao final da terapia clareadora, onde observa-se melhor resultado no grupo controle (C) e G15, entretanto, resultados consideráveis também foram observados no grupo GSP.

Com o passar do tempo os valores do grupo controle (C) permaneceram inalterados, diferentemente dos demais grupos, onde foi observado uma redução dos valores de microdureza superficial quando comparados antes e após o tratamento clareador.

**Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão de microdureza interna em função das profundidades**

MICRODUREZA SUPERFICIAL		
	INICIAL	FINAL
CONTROLE	334,7 (3,8) Aa	334,5 (3,6) Aa
CONTROLE GEL	333,3 (3,6) Aa	304,8 (6,7) Cb
GEL 15	335,3 (3,2) Aa	319,1 (6,1) Bb
GEL SCAFFOLD	336,5 (3,2) Aa	336,2 (3,4) Aa

Letras maiúsculas iguais (em colunas) indicam que não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos antes do tratamento clareador ( $p>0.05$ ); Letras minúsculas diferentes (em linhas) indicam discordâncias estatísticas de cada grupo em relação ao tempo, antes e após o tratamento.

Fonte: Autor, 2024

## 5 DISCUSSÃO

A imagem pessoal de cada indivíduo tem-se tornado de extrema importância, e ainda, a base para conquistas sociais do mesmo, de tal forma que a sociedade impõe a estética do belo sendo uma característica imprescindível, os dentes brancos e claros compõem o nicho. Desta forma, o clareamento dental é um dos procedimentos mais procurados pelos pacientes na clínica odontológica e assim também, uma das maiores reclamações, a sensibilidade dentária, que varia de indivíduo para indivíduo e que pode ocorrer tanto durante, quanto após a terapia clareadora.

Assim, muitas metodologias *in vitro* estão sendo desenvolvidas e estudadas analisando diferentes terapias clareadoras, associação de bioprodutos, quantidade de  $H_2O_2$  nos géis clareadores utilizando discos de esmalte/dentina<sup>24-26</sup>. Os usos dos discos de esmalte/dentina podem ser utilizados para as análises de alteração cromática, difusão trans-amelodentinária, rugosidade e microdureza do esmalte<sup>13,25</sup>, desde que sejam padronizados quanto a idade, coloração, diâmetro e espessura<sup>25</sup>.

Tal padronização é de extrema importância, sabendo que, estas características influenciam diretamente na espessura de esmalte e dentina, que estão diretamente relacionadas a alteração cromática e difusão do peróxido de hidrogênio pelos tecidos dentinários, o que influencia diretamente nos efeitos adversos e citotóxicos do tratamento clareador<sup>25,27-29</sup>.

Assim, é possível realizar a análise comparativa dos resultados estéticos, alterações morfológicas na superfície do esmalte e difusão do peróxido de hidrogênio e quantos mais testes laboratoriais se façam necessários<sup>13,30</sup>, resguardados também por diversos trabalhos em que foram encontradas semelhanças entre as estruturas de esmalte e dentina de dentes humanos e bovinos<sup>31-35</sup>, e essa similaridade colabora para utilização dos mesmos nas pesquisas laboratoriais.

Em relação a padronização dos espécimes utilizados, estes foram selecionados e padronizados quanto ao diâmetro, espessura e coloração. Também foram submetidos à pigmentação com chá preto, sendo uma técnica já utilizada e aprovada entre os pesquisadores<sup>29,36,37</sup>. Ainda, ressalta-se que a quantidade de pigmentos presentes nos dentes pode interferir na difusão trans-amelodentinária de peróxido de hidrogênio<sup>29,36</sup>.

Desta forma a padronização ocorreu determinando o valor médio de  $\Delta E$  de cada amostra pelo sistema CIE  $L^*a^*b^*$ , com comprimento de onda variando de 400 nm a 700 nm, iluminação padrão D65 e ângulo de iluminação/observação de 45/0<sup>o12</sup>. De modo que, os grupos foram divididos seguindo os valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  similares entre os espécimes.

Para a análise da difusão do peróxido de hidrogênio, os espécimes foram montados em câmaras pulpares artificiais (CPAs) e individualizados, com o esmalte voltado para cima, possibilitando a aplicação e remoção fácil do gel clareador, e a dentina voltada para baixo em contato com a solução enzimática, permitindo posteriormente que o líquido fosse coletado do interior das CPAs e dispensado na solução de leucocristal e peroxidase para correta análise da difusão, simulando assim, as características *in vivo*<sup>38</sup>.

Antes de se iniciar o protocolo clareador, é necessário que os bioprodutos a serem utilizados estejam prontos para uso. Assim como descrito no item 3.8 a confecção dos Scaffolds Poliméricos (ScP) foi realizada no laboratório de Patologia Experimental e Biomateriais da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr-Unesp), sendo escolhida a técnica de electrospinning com solução de 12,5% de PCL, considerada a opção de melhor escolha por se assemelhar a estruturas dentais<sup>16</sup>. Assim também, o primer polimérico catalisador (PrP) utilizado, foi disponibilizado pronto para uso.

Em relação aos resultados obtidos nas análises de alteração cromática, todos os grupos observados alcançaram resultados significantes e satisfatórios, tanto os grupos expostos por menor tempo ao gel clareador quanto aos de maior tempo, diferentemente do grupo controle (C), que permaneceu inalterado. Desta forma, pode-se considerar que os resultados estéticos foram semelhantes entre os grupos<sup>9</sup>.

A capacidade de alteração cromática observada em  $\Delta E$  mostrou médias próximas entre os grupos, mesmo que, estatisticamente os resultados tenham sido diferentes. De tal forma que, as alterações cromáticas puderam ser observadas ao longo das sessões clareadoras, diferentemente do grupo controle. Ainda, os menores valores encontrados são pertencentes ao grupo G15, o qual teve o menor tempo de exposição ao gel, resultados semelhantes também foram encontrados na literatura<sup>39</sup>. Já os maiores valores encontrados, e que também observou-se um aumento de  $\Delta E$  com o passar das terapias, foram os grupos expostos ao gel clareador por mais tempo, especificamente os grupos G45 e GSP.

Com resultados muito semelhantes ao  $\Delta E$ , o índice de clareamento <sup>WID</sup> também apresentou médias semelhantes entre os grupos, sendo o maior valor encontrado no grupo

G45 ao qual recebeu terapia teste convencional, em seguida, os melhores resultados são obtidos no grupo GSP. Aumento gradativo desses resultados foram observados até a terceira sessão clareadora (T3), o que difere do grupo G15, que obteve seu melhor resultado apenas em T3, o que não significa que não houve aumento dos resultados observados. Já o grupo controle permanece com resultados inalterados. Sendo negada a primeira hipótese nula.

Ao que se analisa na difusão trans-amelodentinária encontrou-se o maior resultado no G45. Entretanto, com resultados aceitáveis tem-se o grupo G15, seguido do grupo GSP, resultados semelhantes também foram encontrados na literatura, onde, os grupos expostos por menos tempo ao gel clareador tiveram resultados diminutos quando comparados aos grupos de maior exposição<sup>40</sup>. Considerando que, a difusão trans-amelodentinária do peróxido de hidrogênio está intimamente relacionada ao processo de sensibilidade dentinária após o tratamento clareador, é inevitável afirmar que a exposição do elemento dentário ao gel clareador por 15 minutos possivelmente diminuiu este efeito citotóxico e ainda mais, que a associação dos bioprodutos utilizados na técnica clareadora estudada potencializou os resultados obtidos. Resultados e análises também já publicados e discutidos em pesquisas *in vitro*<sup>18</sup>. Sendo aceita a segunda hipótese nula.

Alterações na rugosidade superficial do esmalte são esperadas após a terapia clareadora, está apresentando-se irregular e porosa<sup>41</sup>. De tal forma que, os grupos que receberam terapia clareadora por 15 minutos (G15) e associados a utilização dos bioprodutos (GSP) tiveram melhores resultados, também já disponível na literatura<sup>42,43,48</sup>, sendo os menores valores encontrados e ainda, semelhantes entre si. De tal forma que, os grupos que receberam terapia teste sofreram menor injúria na superfície de esmalte, que como encontrado em outra publicação, o pH ácido do gel clareador associado ao maior tempo de exposição, como na terapia convencional, grupo G45, as alterações encontradas são maiores e significativas<sup>42</sup>. O que difere dos resultados descritos em outro estudo, onde alterações na superfície de esmalte não foram encontradas, o que pode ser explicado por um protocolo clareador diferente deste estudo. Sendo aceita a terceira hipótese nula.

Resultados semelhantes foram encontrados nas análises de microdureza superficial<sup>44</sup>, onde o grupo GSP obteve os melhores valores, seguido do grupo G15, o que difere do grupo G45 que observou-se alterações significativas na superfície de esmalte e do grupo controle (C), que se manteve inalterado, já que não recebeu nenhum tratamento clareador. Sendo percebido que quanto mais tempo o elemento dentário for exposto ao gel clareador, mais

alterações na superfície desse elemento poderão ser encontradas, sugestão baseada e publicada<sup>45,49</sup>. Sendo aceita a quarta hipótese nula.

Consequentemente pode-se observar que a utilização do scaffold polimérico associado ao primer catalisador possibilitou a obtenção de resultados estéticos satisfatórios e a diminuição da difusão transamelodentinária do peróxido de hidrogênio, consequentemente menor citotoxicidade e sensibilidade dentária após o tratamento. Características que diferem dos grupos não associados, aos quais, a difusão foi maior, mesmo que as alterações cromáticas tenham sido satisfatórias. Tal efeito foi relacionado a acelerada decomposição de  $H_2O_2$  no gel clareador que foi mediada pela HRP e que ainda assim<sup>46,47</sup>, o aumento dessa reatividade com os componentes orgânicos dentários limite a difusão da molécula tóxica.

Ainda, a terapia teste possibilitou que houvesse menores alterações nas superfícies de esmalte, como visto nas análises de rugosidade e microdureza superficial. O que pode ser explicado pela utilização dos bioprodutos, sendo o Scaffold polimérico uma malha de nanofibras que ao ser posicionada sobre o elemento dentário, atua como barreira física do gel clareador. Sendo o resultado satisfatório pela associação do primer catalisador, onde a reação de quebra das moléculas cromóforas é acelerada e ainda promovendo a diminuição das espécimes reativas de oxigênio, sendo possível a diminuição do tempo de exposição ao gel clareador, sendo possível uma alteração cromática satisfatória, os efeitos adversos de sensibilidade dentinária após o tratamento clareador, reduzido e as injúrias superficiais do esmalte diminuídas.

## **6 CONCLUSÃO**

Conclui-se que, a utilização do scaffold polimérico e primer catalisador associados a diminuição do tempo de exposição do gel clareador de 45 minutos para 15 minutos potencializou a alteração cromática, diminuiu a difusão trans-amelodentinária do peróxido de hidrogênio e diminuiu as alterações morfológicas de rugosidade e microdureza superficial do esmalte dentário.

## REFERÊNCIAS

1. Angel P, Bersezio C, Estay J, Werner A, Retamal H, Araya C, et al. Color stability, Psychosocial impact, and effect on self perception of esthetic of tooth whitening using Low-concentration (6%) hydrogen peroxide. *Quintessence Int.* 2018;49(7):557-6. Doi: 10.3290/j.qi.a40468.
2. Haywood VB. Achieving, maintaining and recovering successful tooth bleaching. *J Esthet Dent.* 1996;8(1):31-8. Doi: 10.1111/j.1708-8240.1996.tb00906.x.
3. Barbosa DC, De'Stefani TP, Ceretta LB, Ceretta RA, Simões PW, D'Altoé LF. Comparative study of tooth whitening techniques in office and supervised at home in vital Teeth: a literature review. *Rev Odontol Univ Cid São Paulo.* 2015;27(3):244-52. Doi: 10.14219/jada.archive.1997.0427.
4. Francci CE, Marson FC, Briso ALF, Gomes MN. Clareamento dental: técnicas e conceitos Atuais. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 2010;64(n esp):78-89.
5. Kugel G, Kastali S. Efficacy and safety of tooth whitening: a randomized controlled trial. *Compend Contin Educ Dent.* 2000;29:16-21.
6. Wijetunga CL, Otsuki M, Abdou A, Luong MN, Qi F, Tagami J. The effect of in-office Bleaching materials with different pH on the surface topography of bovine enamel. *Dent Mater J.* 2021;40(6):1345-51. Doi: 10.4012/dmj.2021-010.
7. Vilhena KFB, Nogueira BCL, Fagundes NCF, Loretto SC, Angelica RS, Lima RR, et al. Dental enamel bleached for a prolonged and excessive time: morphological changes. *PloS One.* 2019;14(4):e0214948. Doi: 10.1371/journal.pone.0214948.
8. Bergendi L, Benes L, Duracková Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of Free radicals. *Life Sci.* 1999;65:1865-1874. Doi: 10.1016/s0024-3205(99)00439-7.
9. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undersirable and adverse effects of tooth whitening products: a review. *Clin Oral Investig.* 2010;14(1):1-10. Doi: 10.1007/s00784-009-0302-4.
10. Kury M, Perches C, Silva DP, André CB, Tabchoury CPM, Giannini M, et al. Color change, diffusion of hydrogen peroxide, and enamel morphology after in-office bleaching with violet light or nonthermal atmospheric plasma: na in vitro study. *J Esthet Restor Dent.* 2020;32(1):102-12. Doi: 10.1111/jerd.12556.

11. Acunã ED, Parreiras SO, Favoreto MW, Cruz GP, Gomes A, Borges CPF, et al. In-office bleaching with a commercial 40% hydrogen peroxide gel modified to have different pHs: color change, surface morphology, and penetration of hydrogen peroxide into the pulp chamber. *J Esthet Restor Dent.* 2022;34(2):322-7. Doi: 10.1111/jerd.12453.
12. Ortecho-Zuta U, Duque CCO, Leite ML, Bordini EAF, Basso FG, Hebling J, et al. Effects of enzymatic activation of bleaching gels on hydrogen peroxide degradation rates, bleaching effectiveness, and cytotoxicity. *Oper Dent.* 2019;44(4):414-23. Doi: 10.2341/17-276-L.
13. Soares DG, Marcomini N, Duque CCO, Bordini EAF, Ortecho-Zuta U, Basso FG, et al. Increased whitening efficacy and reduced cytotoxicity are achieved by the chemical activation of a highly concentrated hydrogen peroxide bleaching gel. *J Appl Oral Sci.* 2019;27:e20180453. Doi: 10.1590/1678-7757-2018-0453.
14. Lancaster L, Bulutoglu B, Banta S, Wheeldon I. Enzyme colocalization in protein-based hydrogels. *Methods Enzymol.* 2019;617:265-85. Doi: 10.1016/bs.mie.2018.12.006.
15. Sato S, Nakamura K, Nakamura H. Horseradish-peroxidase-catalyzed tyrosine click reaction. *Chembiochem.* 2017;18(5):475-8. Doi: 10.1002/cbic.201600649.
16. Dabouian A, Bakhshi H, Irani S, Pezeshki-Modaress M.  $\beta$ -carotene: a natural osteogen to fabricate osteoinductive electrospun scaffolds. *RSC Adv.* 2018;8(18):9941-5. Doi: 10.1039/C7RA13237A.
17. Ortecho-Zuta U, Duque CCO, Ribeiro RAO, Leite ML, Soares DG, Hebling J, et al. Polymeric biomaterials maintained the esthetic efficacy and reduced the cytotoxicity of In-office dental bleaching. *J Esthet Restor Dent.* 2021;33(8):1139-49. Doi: 10.1111/jerd.12805.
18. Ortecho-Zuta U, Duque CCO, Ribeiro RAO, Leite ML, Soares DG, Hebling J, et al. Strategy for reducing cytotoxicity and obtaining esthetic efficacy with 15 min of in office dental bleaching. *Clin Oral Investig.* 2022;26(5):4099-108. Doi: 10.1007/s00784-022-04379-z.
19. Almeida LC, Soares DG, Azevedo FA, Gallinari MO, Costa CA, Santos PH, et al. At-home bleaching: color alteration, hydrogen peroxide diffusion and cytotoxicity. *Braz Dent J.* 2015;26(4):378-83. Doi: 10.1590/0103-6440201300380.

20. Briso ALF, Caruzo LP, Guedes APA, Catelan A, Santos PH. In vitro evaluation of surface roughness and microhardness of restorative materials submitted to erosive challenges. *Oper. Dent.* 2011;36(4):397-402. Doi: 10.2341/10-356-L.
21. Oliveira LC, Santos PH, Ramos FSS, Moda MD, Briso ALF, Fagundes TC. Wear, roughness and microhardness analyses of single increment restorative materials submitted to different challenges in vitro. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2020;22(2):247-55. Doi: 10.1007/s40368-020-00554-6.
22. Santos PH, Brogin FF, Catelan A, Suzuki TYU, Guedes APA, Pavan S, et al. Effect of whitening and desensitizing dentifrices on composite surfaces treated with surface sealants. *J Investig Clin Dent.* 2013;4(2):101-6. Doi: 10.1111/jicd.12004.
23. Moreira JC, Gallinari MO, Rahal V, Fagundes TC, Santos PH, Moura MR, et al. Effect of dental pigmentation intensity on the transenamel and transdental penetration of hydrogen peroxide. *Braz Dent J.* 2016;27(4):399-403. Doi: 10.1590/0103-6440201600838.
24. Soares DG, Basso FG, Hebling J, Costa CAS. Effect of hydrogen-peroxide-mediated oxidative stress on human dental pulp cells. *J Dent.* 2015;43(6):750-6. Doi: 10.1016/j.jdent.2014.12.006.
25. Duque CCO, Soares DG, Basso FG, Hebling J, Costa CAS. Influence of enamel/dentin Thickness on the toxic and esthetic effects of experimental in-office bleaching protocols. *Clin Oral Investig.* 2017;21(8):2509-20. Doi: 10.1007/s00784-017-2049-7.
26. Barbosa JG, Benetti F, Gallinari MO, Carminatti M, Silva ABD, LopesINI, et al. bleaching gel mixed with MI paste plus reduces penetration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and damage to pulptissue and Maintains bleaching effectiveness. *Clin Oral Invest.* 2020;24(3):1299-309. Doi: 10.1007/s00784-019-03009-5.
27. Costa CAS, Riehl H, Kina JF, Sacono NT, Hebling J. Human pulp responses to in-office tooth bleaching. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(4):59-64. Doi: 10.1016/j.tripleo.2009.12.002.
28. Roderjan DA, Stanislawczuk R, Hebling Josimeri, Costa CAS, Reis A, Loguercio AD. Response of human pulps to different in-office bleaching techniques: preliminary findings. *Braz Dent J.* 2015;26(3):242-8. Doi: 10.1590/0103-6440201302282.

29. Duque CCO, Soares DG, Briso ALF, Ortecho-Zuta U, Ribeiro RAO, Hebling J, et al. Influence of tooth pigmentation on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diffusion and its cytotoxicity after in-office tooth bleaching. *Oper Dent* 2020;45(6):632-42. Doi: 10.2341/19-013-L.
30. Soares DG, Hebling J, Costa CAS. Human pulpar response to peroxides. In: Perdigão J, editor. *Tooth whitening*. St. Louis: Springer; 2016. p. 81-97.
31. Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res*. 1992;71(Spec):913-9. Doi: 10.1177/002203459207100S25.
32. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod*. 2001;27(1):23-30. Doi: 10.1097/00004770-200101000-00007.
33. Fonseca RB, Haiter-Neto F, Fernandes-Neto AJ, Barbosa GAS, Soares CJ. Radiodensity of enamel and dentin of human, bovine and swine teeth. *Arch Oral Biol*. 2004;49(11):919-22. Doi: 10.1016/j.archoralbio.2004.05.006.
34. Krifka S, Borzsonyi A, Koch A, Hiller KA, Schmalz G, Friedl KH. Bond strength of adhesive systems to dentin and enamel – human vs. bovine primary teeth in vitro. *Dent Mater*. 2008;24(7):888-94. Doi: 10.1016/j.dental.2007.11.003.
35. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A. Influence of study design on the impact Of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dent. Mater*. 2009;25(2):143-57. Doi: 10.1016/j.dental.2008.05.010.
36. Moreira JC, Gallinari MO, Rahal V, Fagundes TC, Santos PH, Moura MR, et al. Effect of dental pigmentation intensity on the transenamel and transdentinal penetration of hydrogen peroxide. *Braz Dent J*. 2016;27(4):399-403. Doi: 10.1111/jicd.12004.
37. Cavalli V, Silva BGD, Berger SB, Marson FC, Tabchoury CPM, Giannini M. Decomposition rate, ph, and enamel color alteration of at-home and in-office bleaching agents. *Braz Dent J*. 2019;30(4):385-96. Doi: 10.1590/0103-6440201902484.
38. Trindade FZ, Ribeiro AP, Sacono NT, Oliveira CF, Lessa FC, Hebling J, et al. Trans-enamel and trans-dentinal cytotoxic effects of a 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bleaching gel on cultured odontoblast cell lines after consecutive applications. *Int Endod J*. 2009;42(6):516-24. Doi: 10.1111/j.1365-2591.2009.01544.x.

39. Kose C, Calixto AL, Bauer JRO, Loguercio AD. Comparison of the effects of in-office bleaching times on whitening and tooth sensitivity: a single blind, randomized clinical trial. *Oper Dent*. 2016;41(2):138-45. Doi: 10.2341/15-085-C.
40. Soares DG, Basso FG, Hebling J, Costa CAS. Concentrations of and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: effects on pulp cell viability and whitening efficacy. *J Dent*. 2014;42(2):185-98. Doi: 10.1016/j.jdent.2013.10.021.
41. Costa CAS, Daniel CP, Soares DGS, Hebling J, Andreeta MRB, Hernandes AC. Efeitos De diferentes sistemas de clareamento dental sobre a rugosidade e morfologia superficial do Esmalte e de uma resina composta restauradora. *ROBRAC*. 2011;20(52):7-14. Doi: 10.36065/robrac.v20i52.535.
42. Pimenta-Dutra AC, Albuquerque RC, Morgan LFSA, Pereira GM, Nunes E, Horta MCR, et al. Effect of bleaching agents on enamel surface of bovine teeth: a SEM study. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(1):e46-50. Doi: 10.4317/jced.53011.
43. 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. Doi: 10.1590/S1806-83242004000400006.
44. Blankenau R, Goldstein RE, Haywood VB. The current status of vital tooth whitening techniques. *Compend Contin Educ Dent*. 1999;20(8):781-4.
45. 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. Doi: 10.1016/S0099-2399(88)80004-9.
46. Travassos AC, Torres CRG, Borges AB, Barcellos DC. In vitro assessment of chemical activation efficiency during in-office dental bleaching. *Oper Dent*. 2010;35(3):287-94. Doi: 10.2341/09-256-L.
47. Torres CR, Souza CS, Borges AB, Huhtala MF, Caneppele TM. Influence of concentration and activation on hydrogen peroxide diffusion through dental tissues in vitro. *Sci World J*. 2013:193241. Doi: 10.1155/2013/193241.
48. Dias MF, Martins BV, Ribeiro RAO, Ortecho-Zuta U, Duque CCO, Soares DG, et al. Efeito da utilização de biomateriais poliméricos catalisadores na eficácia clareadora e citotoxicidade de um gel clareador com 35% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Rev Odontol. UNESP*.

2020;49(Especial):185.

49. Ortecho-Zuta U. Efeito da ativação enzimática de um gel clareador sobre a cinética de Degradação do peróxido de hidrogênio, eficácia clareadora e citotoxicidade Trans-amelodentinária [dissertação]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2017.