



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

LUCIANA FLORIANI THIVES FREITAS SANTOS

**EFEITO DA ESCOVAÇÃO UTILIZANDO DENTIFRÍCIOS COM
DIFERENTES GRAUS DE ABRASIVIDADE NO DESGASTE
DO ESMALTE, APÓS O USO DE AGENTES CLAREADORES
COM E SEM CÁLCIO, EM DIFERENTES INTERVALOS DE
TEMPO.**

2014

LUCIANA FLORIANI THIVES FREITAS SANTOS

**EFEITO DA ESCOVAÇÃO UTILIZANDO DENTIFRÍCIOS COM
DIFERENTES GRAUS DE ABRASIVIDADE NO DESGASTE DO
ESMALTE, APÓS O USO DE AGENTES CLAREADORES COM E SEM
CÁLCIO, EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO.**

Tese apresentada ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade Dentística.

Orientador: Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges

Co-orientador: Prof. Adj. Carlos Rocha Gomes Torres

São José dos Campos

2014

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges (Orientadora)

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Profa. Assoc. Daniela Rios Honório

Faculdade de Odontologia de Bauru
Universidade de São Paulo- USP

Profa. Adj. Rebeca Di Nicoló

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Prof. Adj. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Valério Costa

Faculdade de Odontologia
Universidade de Taubaté-UNITAU

São José dos Campos, 16 de dezembro de 2014.

DEDICATÓRIA

Ao Cesar e Guilherme meus dois amores.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Alessandra Bühler Borges, por me acompanhar durante toda esta trajetória.

Ao Prof. Adj. Carlos Rocha Torres, pela busca constante no aprimoramento da pesquisa.

À Profa. Titular Marcia Carneiro Valera Garakis, coordenadora do curso de pós-graduação em Odontologia Restauradora, pelas palavras de incentivo sempre presentes. Meu sincero respeito e admiração.

Aos Professores Dr. Eduardo Bresciani e Dra Carolina Judica Ramos pelo aprimoramento do trabalho.

Aos professores das disciplinas de Dentística I e Oclusão e Escutura desta instituição, pela oportunidade de atuar como docente.

Ao Prof. Ivan Balducci pelo auxílio na análise estatística.

À Daniela Bonfiette, por fazer parte desta conquista.

À Doutoranda Érica Crastechini, por dividir anseios e expectativas.

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

Aos colegas da pós-graduação que direta ou indiretamente contribuíram nesta trajetória, formando uma grande família.

À Josiana pela amizade, carinho e incentivo.

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

À Rose, ao Bruno e Ivan, pelo incansável trabalho na secretaria da pós-graduação.

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

À Cecília por me ajudar a chegar até aqui.

“Apreendi a iluminar as sombras. Recebi a recompensa.

Fiz morada no arco-íris”

Adélia Maria Woellner- livro: Tempo de Escolhas

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	08
LISTA DE TABELAS	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Esmalte Dentário.....	18
2.2 Clareamento.....	22
2.3 Abrasão	26
3 PROPOSIÇÃO.....	30
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 Delineamento Experimental.....	31
4.1.1 Unidades experimentais.....	31
4.1.2 Fatores em estudo.....	31
4.1.3 Variável de resposta	32
4.2 Preparo dos Espécimes.....	32
4.3 Protocolo de Estudo <i>in Vitro</i>	38
4.3.1 Procedimentos clareador e abrasivo.....	40
4.3.2 Avaliação do desgaste superficial.....	44
4.4 Planejamento Estatístico.....	45
5 RESULTADOS.....	46
6 DISCUSSÃO.....	51
7 CONCLUSÃO.....	62
8 REFERÊNCIAS	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A) Separação da coroa-raiz em torno de alta rotação; B) Corte dos espécimes de esmalte no equipamento para corte circular; C) Espécime de esmalte após recorte de 3 mm de diâmetro; D) Matriz de silicone com cavidade de 0,1 mm de profundidade em segundo nível; E) Posicionamento do espécime com a superfície do esmalte voltada para o fundo do molde; F) Preenchimento do molde com resina acrílica; G) Molde com espécimes colocados no interior da polimerizadora de resina; H) Polimerizadora de resina com pressão de 30 psi; I) Espécime após o embutimento 34

Figura 2 - A) Dispositivo metálico para polimento da base do espécime com uma cavidade em segundo nível para acomodar a projeção de esmalte; B) Espécime posicionado em dispositivo metálico para desgaste da base; C) Polimento em politriz circular para desgaste da base; D) Dispositivo metálico para polimento da superfície de esmalte; E) Espécime sendo posicionado para polimento do esmalte; F) Polimento em politriz circular para planificação do esmalte, G) Banho ultrassônico H) Marcação de duas linhas paralelas entre si no espécime, I) Espécime com as marcações realizadas..... 36

Figura 3 - A) Dispositivo posicionador; B) Espécime posicionado no sulco lateral; C) Leitura em perfilômetro de contato..... 37

Figura 4 - Esquema representativo das três varreduras realizadas durante a leitura no perfilômetro (0,25 mm entre as leituras)	37
Figura 5 - Visualização gráfica do perfil inicial obtido pelo software Mar Surf XCR 20. (*) Marcações dos sulcos paralelos realizadas nos espécimes observadas no gráfico	38
Figura 6 - Esquema da divisão dos grupos para o substrato testado.....	40
Figura 7 - A) Gel clareador peróxido de hidrogênio aplicado nos espécimes; B) Gel clareador peróxido de hidrogênio com adição de cálcio nos espécimes; C) Espécimes em saliva durante o intervalo de 1h.para escovação; D) Espécimes colocados em suporte metálico para escovação E) <i>Slurries</i> depositados sobre os espécimes para início da escovação, F) Escovação dos espécimes na máquina de escovação.....	42
Figura 8 - Sobreposição do perfil inicial (vermelho) e o perfil final (azul).....	44
Figura 9 – Gráfico das médias para os grupos testados.....	47
Figura 10- Gráfico das médias (desvio-padrão) e apresentação dos grupos homogêneos para os grupos testados.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela1– Solução base de Carboximetilcelulose (CMC) para preparo dos <i>slurries</i>	42
Tabela 2 - Composição dos abrasivos utilizados para simulação dos <i>slurries</i>	42
Tabela 3- Regime de tratamento diário.....	43
Tabela 4- Dados da média e desvio-padrão $\pm$ (DP) para o desgaste da superfície do esmalte.....	46
Tabela 5 - Resultado dos dados de desgaste ANOVA (três fatores)	47
Tabela 6 - Dados da média (μm) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) do teste de Tukey para o clareamento.....	48
Tabela 7- Dados da média (μm) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) do teste de Tukey para a escovação.....	48
Tabela 8- Dados da média (μm) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) do teste de Tukey para o tipo de abrasivo.....	49

Santos LFTF. Efeito da escovação utilizando dentifrícios com diferentes graus de abrasividade no desgaste do esmalte após o uso de agentes clareadores com e sem cálcio em diferentes intervalos de tempo [tese]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2014.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da escovação, utilizando dentifrícios com diferentes graus de abrasividade após a exposição ao agente clareador peróxido de hidrogênio (PH) 7,5% com ou sem a adição de gluconato de cálcio em diferentes intervalos de tempo (imediatamente e após 1 h). Foi analisada a alteração no tecido dental decorrente destas interações no desgaste de superfície do esmalte. Neste estudo foram utilizados 144 espécimes de esmalte bovino, os quais foram distribuídos em 12 grupos ($n = 12$) de acordo com o gel clareador utilizado (com e sem cálcio), o grau de abrasividade (alto ou baixo) e o intervalo de tempo decorrido após a utilização do gel clareador (imediatamente e após 1 h). Para o controle, 4 grupos não foram expostos ao gel clareador, apenas passaram pelos ciclos de abrasão, de acordo com o tipo de abrasivo e o intervalo de tempo. O gel clareador foi aplicado por 1 h e após este período, os grupos que foram escovados imediatamente, passaram para o ciclo de abrasão e os do intervalo de 1 h permaneceram na saliva artificial antes da realização dos ciclos abrasivos. Os espécimes foram submetidos a 45 ciclos de escovação, correspondentes a 3x ao dia (135 ciclos por dia - 1 min e 30 s). Estes procedimentos foram repetidos por 7 dias, totalizando 945 ciclos ao final do estudo. O desgaste da superfície do esmalte foi medido (μm) por perfilometria. Para verificação dos resultados foi aplicado o teste ANOVA três fatores e o teste de Tukey. O nível de significância foi de 5%. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes ($p=0,0001$) para os três fatores testados. Os valores de média ($\pm$ DP) e os resultados do teste de Tukey para o fator clareamento foram: SC- $0,45(\pm 0,01)\text{a}$, PH+Ca- $0,51(\pm 0,03)\text{b}$, PH- $0,82(\pm 0,01)\text{c}$. Para o fator abrasivo, foram: Baixo- $0,44(\pm 0,01)\text{a}$ e Alto- $0,74(\pm 0,05)\text{b}$ e para o intervalo de tempo, foram: 1 h- $0,41(\pm 0,01)\text{a}$, imediatamente- $0,77(\pm 0,05)\text{b}$. Pode-se concluir que: a) o clareamento com PH 7,5% aumentou a susceptibilidade do esmalte à abrasão, b) o alto grau de abrasividade da suspensão aumentou o desgaste do esmalte e c) o intervalo de tempo de 1 h para a realização da escovação após a remoção do gel clareador promoveu a redução do desgaste do esmalte.

Palavras-chave: Esmalte. Clareamento. Abrasão dentária. Perfilometria.

Santos LFTF. *Effect of brushing with toothpaste using different grades of abrasive wear of the enamel after the use of bleaching agents with and without calcium at different time intervals [tese].* São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2014

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of brushing, using toothpastes with different degrees of abrasiveness after exposure to bleaching agent hydrogen peroxide (HP) 7.5% with or without the addition of calcium gluconate in different time intervals (immediately and after 1 h). The alteration in dental tissue resulting from these interactions on enamel surface wear was analyzed. In this study 144 bovine enamel specimens were divided into 12 groups ($n = 12$) according to the whitening gel used (with and without calcium), the grade of abrasive (high or low) and the time interval elapsed after use of the bleaching gel (immediately and after 1h). For the control, four groups were not exposed to the bleaching gel and were just submitted to abrasion cycles according to the type of abrasive and the time interval. The bleaching gel was applied for 1 h and after this period, the groups that were brushed immediately were submitted to abrasion cycle, and the ones tested after 1h, remained in artificial saliva before the performance of abrasive cycles. The specimens were subjected to 45 cycles of brushing, corresponding to 3x a day (135 cycles per day - 1 min 30 s). These procedures were repeated for 7 days, totaling 945 cycles at the end of the study. The enamel wear was measured (μm) by profilometry. To check the results, three-way ANOVA and Tukey's test was applied. The significance level was 5%. Statistically significant differences ($p = 0.0001$) for the three tested factors were observed. Mean values ($\pm$ SD) and results of Tukey test for whitening factor were: NB- $0.45(\pm 0.01)a$, HP+Ca- $0.51(\pm 0.03)b$, HP - $0.82(\pm 0.01)c$. For the abrasive factor were: Low- $0.44(\pm 0.01)a$ and High- $0.74(\pm 0.05)b$ and for the time interval, were: 1h- $0.41(\pm 0.01)a$, immediately- $0.77(\pm 0.05) b$. It can be concluded that: a) HP 7.5% bleaching increased the enamel susceptibility to abrasion, b) the high degree of abrasiveness increased enamel wear, and c) the 1h delayed brushing time after removing the bleaching agent caused a reduction of the enamel wear.

Keywords: Enamel. Bleaching. Tooth abrasion. Profilometry.

1 INTRODUÇÃO

O tratamento clareador vem sendo empregado há mais de um século (Goldstein et al., 1989), utilizando substâncias capazes de liberar radicais livres, altamente reativos, que promovem o clareamento pela oxidação dos pigmentos. Em 1989, Haywood e Heymann descreveram a técnica do clareamento vital, que empregava moldeiras carregadas com o agente clareador peróxido de carbamida (PC) a 10%, utilizada pelo paciente em casa durante à noite. A partir de então, o gel de peróxido de carbamida a 10% tem sido tradicionalmente utilizado no período noturno.

O peróxido de carbamida se dissocia em peróxido de hidrogênio (PH) e uréia. Como a maior degradação do peróxido de hidrogênio ocorre nos 30 min iniciais (Marques et al., 2012) e após este período, apenas cerca de 40 a 50% do PC ou PH estão disponíveis na moldeira (Matis et al., 1999; De la Peña et al., 2013), existe uma tendência em se reduzir o tempo de permanência do gel para cerca de 30 min a 2 h diárias (Kugel et al., 2007; Bagheri et al., 2014), principalmente quando da escolha de géis a base de peróxido de hidrogênio, com concentrações que variam de 6 a 10%.

O mecanismo pelo qual esses agentes clareadores agem baseia-se na difusão do peróxido de hidrogênio pelo interior do esmalte e da dentina, onde libera radicais altamente reativos, que promovem o clareamento pela oxidação dos pigmentos presentes no dente (Dahl, Pallesen, 2003). Embora os estudos tenham comprovado a eficácia dos agentes clareadores, os efeitos adversos nos tecidos dentais devem ser cuidadosamente avaliados para que seu uso seja seguro (Papathanasiou et al., 2002; Sulieman et al., 2004; de Silva Gottardi et al., 2006).

O clareamento dental pode resultar em mudanças na estrutura dentária, promovendo defeitos na superfície, como a formação de porosidades e redução da microdureza nos tecidos, bem como alterações na composição química, como a redução das concentrações de cálcio e fósforo (Ca/P) no esmalte e na dentina clareados (McCracken, Haywood, 1996; Gultz et al., 1999; Basting et al., 2001; Woesched et al., 2006; Pinto et al., 2009; Cakir et al., 2011). Desta forma, com o intuito de reduzir o potencial de desmineralização do gel clareador, a adição de agentes potencialmente remineralizantes como cálcio e flúor nos géis clareadores tem sido estudada (Lewinstein et al., 2004; Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011; Borges et al., 2012).

Adicionalmente a estes efeitos, a higiene oral diária (escovação com creme dental) e o grau de abrasividade do dentífrico, após a utilização do gel clareador, poderiam intensificar os defeitos sobre a estrutura dental. Estudos prévios observaram um maior desgaste da dentina clareada após a escovação, mas não observaram alteração significativa no esmalte clareado associado à abrasão (Faraoni-Romani et al., 2009) ou à erosão/abrasão (Engle et al., 2010; Lima et al., 2013). Além disso, o grau de abrasividade do dentífrico pode estar relacionado ao potencial de desgaste na dentina (Macdonald et al., 2010; West et al., 2012).

Adicionalmente, existe uma preocupação quanto ao intervalo ideal entre a remoção do gel clareador e a realização da escovação, para a redução da interação entre o agente clareador e o processo abrasivo sobre os tecidos dentais. Embora Navimipour et al., 2012 não tenham observado mudanças na microdureza do esmalte clareado imediatamente ou após 1 e 2 h da remoção do agente clareador, um aumento na rugosidade de superfície quando a escovação foi realizada imediatamente após a utilização do gel clareador foi relatada (Navimipour et al., 2013). De fato, estudos anteriores observaram um aumento da rugosidade quando da associação entre o clareamento dental

e a abrasão por escovação (Woesched et al., 2006; Hilgenberg et al., 2011).

Desta forma, torna-se interessante avaliar a influência da adição do cálcio no agente clareador sobre os potenciais efeitos deletérios do clareamento com o gel de peróxido de hidrogênio a 7,5%, assim como o grau de abrasividade do dentifrício utilizado e o intervalo de tempo para a escovação após a remoção do gel clareador, na susceptibilidade ao desgaste do esmalte dentário.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A elaboração desta revisão da literatura teve por objetivo abordar algumas das mais relevantes pesquisas que antecederam este estudo, as quais serão apresentadas em três tópicos: 2.1 Esmalte Dentário, 2.2 Clareamento, 2.3 Abrasão.

2.1. Esmalte Dentário

O conhecimento detalhado e a compreensão das características químicas e estruturais dos tecidos dentários são de grande interesse, porque têm consequências importantes nas diferentes áreas da Odontologia (Srot et al., 2012).

Dentre os tecidos do corpo humano, o esmalte dentário é o tecido mais mineralizado e ao mesmo tempo o mais duro, o que lhe confere durabilidade e resistência necessárias contra as forças oclusais durante a mastigação. Recobre a coroa do dente, sendo composto por 92-96% de matéria inorgânica ou fase mineral, e o restante por água e material orgânico residual (LesGeros, 1991; Schmitz et al., 2014).

Sua fase mineral é constituída de fosfato de cálcio em forma de cristais de hidroxiapatita (HA), carbonatada ou fluoretada (Gwinnet, 1992).

Tanto a quantidade, como o volume de mineral presentes no esmalte são controlados pelos ameloblastos de origem epitelial. O desenvolvimento do esmalte (amelogênese) consiste em várias fases,

que incluem os estágios de secreção, transição e maturação. Estes eventos de mineralização ocorrem pela deposição de proteínas. Os ameloblastos da fase de secreção produzem e secretam proteínas específicas na matriz do esmalte que são substituídos por cálcio e fósforo durante a sua maturação. Assim, a secreção de proteínas no esmalte está associada com a parte inicial da formação dos cristais, quando estão crescendo essencialmente em comprimento. Durante a fase de transição, os ameloblastos reduzem muito sua secreção de proteínas, sendo que a remoção de matéria orgânica e acúmulo de mineral culminam no esmalte maduro (Caterina et al., 2002; Fukumoto et al., 2004; Hu et al., 2008; Simmer et al., 2009; Smith et al., 2011).

O elemento cálcio, componente mineral presente neste tecido é responsável por funções fundamentais nos organismos como suporte mecânico e proteção (Berridge et al., 1998).

Existem duas classificações para os minerais contendo cálcio; o fosfato de cálcio e o carbonato de cálcio, presentes tanto nos dentes, como nos ossos. Eles são termodinamicamente estáveis em ambientes biológicos devido a sua alta energia e baixa solubilidade.

Quanto a sua microestrutura, o esmalte consiste de cristais ordenados em prismas, que correm perpendicularmente a partir da junção dentina-esmalte em direção a superfície do dente (Fava et al., 1999). Entre os prismas, a área interprismática é rica em proteínas (Fejerskov et al., 1984). Na camada com ausência de prismas, denominada de esmalte aprismático, os cristais de hidroxiapatita são dispostos paralelamente uns aos outros e perpendiculares a superfície do esmalte (Fava et al., 1997).

Por possuir características peculiares, se diferencia dos demais tecidos, quanto a sua composição, microestrutura e propriedades físicas, sendo estas características importantes para a compreensão e o entendimento dos resultados dos estudos que referenciam este tecido.

Geralmente os espécimes de dentes humanos são preferencialmente escolhidos para os testes em pesquisas *in vitro* ou *in situ*, por seus resultados serem considerados mais relevantes clinicamente (Yassen et al., 2011).

Alguns fatores como a dificuldade na obtenção da quantidade e da qualidade necessárias destes dentes, pois são normalmente extraídos por apresentarem cáries extensas ou defeitos (Mellberg, 1992); o controle da origem e da idade, o que poderia levar a variações nos resultados; também a pequena área de superfície para obtenção dos espécimes, sendo uma limitação para alguns estudos, devido à dificuldade de extrair superfícies planas e uniformes (Zero, 1995) e o aumento dos critérios quanto as questões éticas (Skene, 2002), tem feito com que alternativas para escolha do substrato dental tenham sido propostas para utilização em pesquisas (Yassen et al., 2011).

Dentre os tipos de substratos, os dentes bovinos, tem sido amplamente utilizados como substitutos dos dentes humanos, sendo que seu uso tem aumentado nos últimos 30 anos, devido a sua relativa facilidade de aquisição em grande quantidade e em boas condições com maior uniformidade quanto a composição (Yassen et al., 2011).

Além disto, sua ampla área de superfície, permitiria a obtenção de um maior número de espécimes, bem como sua uniformidade, por não apresentarem lesões de cárie e outros defeitos (Mellberg, 1992).

Estudos tem sido realizado quanto a sua estrutura e composição química, com o intuito de comparar resultados e verificar sua validade como substitutos dos dentes humanos em experimentos.

Quando comparados quanto a composição química, Feagin et al. (1969), verificaram que a relação entre Ca/P removidos da superfície do esmalte durante o processo de desmineralização e suas características durante a remineralização foram as mesmas para ambos os substratos. Assim como Davidson et al., em 1973 encontraram maior

quantidade de cálcio no esmalte bovino que no humano, respectivamente 37,9% e 36,8%, tendo uma distribuição mais homogênea no esmalte bovino quando comparado ao esmalte humano. Fincham (1980), constatou que as proteínas da matriz do esmalte de incisivos humanos em desenvolvimento apresentavam composição semelhante aos bovinos em desenvolvimento, embora algumas diferenças na matriz do esmalte tenham sido notadas e confirmadas em outro estudo (Fincham et al., 1982), sendo que as principais diferenças no conteúdo destas proteínas foram encontradas por Robinson et al. (1975).

Nos estudos de abrasão, Rios et al., 2006 compararam quantitativamente o comportamento do esmalte humano e bovino e constatarem menores valores na microdureza e maior desgaste do substrato bovino que do humano. Em novo estudo, Rios et al., 2008 analisaram o efeito da estimulação da saliva no esmalte de ambos os substratos após erosão seguida por escovação imediatamente e após uma hora, e não constatarem diferenças entre os substratos.

Attin et al, 2007 compararam a perda de superfície no esmalte de dentes permanentes e decíduos em substratos humanos e bovinos, após a indução da abrasão por escovação e em combinação com estímulos de erosão e abrasão concomitantemente e verificaram que não houve diferença significativa entre eles após a abrasão, entretanto para a erosão associada a abrasão, a perda do esmalte humano tanto decíduo como permanente foi significante menor que o bovino.

2.2 Clareamento

O tratamento clareador tem sido ao longo dos anos uma busca constante dos indivíduos que procuram por uma aparência estética mais agradável e harmônica do seu sorriso.

Esta técnica que busca o tratamento das alterações de cor nos dentes vem sendo empregada com o intuito de amenizá-las ou modificar a cor dos dentes, tornando-os mais claros.

Até 1989, a técnica mais utilizada para dentes vitalizados com alterações de cor, consistia no ataque do esmalte com ácido fosfórico a 37% e aplicação da solução de peróxido de hidrogênio (PH) 30% na superfície dos dentes, seguida da aplicação ou não de uma fonte de calor (Haywood, Heymann, 1989). Entretanto, alguns inconvenientes como a queixa pela sensibilidade dentária, a necessidade de isolamento absoluto durante a realização da técnica, por se tratar de um agente cáustico, assim como o polimento do dente após o tratamento para restabelecer o brilho da superfície (Nathanson, Parra, 1987) e os constantes retornos ao consultório para outras sessões fizeram com que novas técnicas fossem introduzidas.

Com o intuito de melhorar os inconvenientes da técnica até então utilizada, Haywood e Heyman em 1989, difundiram o clareamento noturno para dentes vitalizados, que poderia ser realizado pelo paciente em casa. Esta técnica consistia na utilização de moldeiras carregadas com o agente clareador peróxido de carbamida (PC) a 10%, proposto como um meio seguro e efetivo para clarear os dentes, sem a necessidade de visitas constantes ao dentista o que diminuiria o custo e o tempo de consultório dispendido para o tratamento. Além disso, por não necessitar de um ataque ácido antes da aplicação do agente clareador e

posterior polimento, as visitas ao consultório seriam mais curtas, apenas para o acompanhamento (Haywood, Heyman, 1989).

O peróxido de carbamida se dissocia em peróxido de hidrogênio e uréia. O mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio, que é aplicado diretamente na superfície do dente ou como subproduto da reação química do peróxido de carbamida, baseia-se na difusão pelo interior do esmalte e da dentina, liberando radicais reativos e promovendo o clareamento pela oxidação dos pigmentos (Dahl, Pallesen, 2003).

Com a crescente demanda pelo clareamento dental, a indústria de produtos Odontológicos desenvolveu géis com diferentes concentrações de peróxido de carbamida (geralmente de 10 a 22%) ou peróxido de hidrogênio (geralmente de 6 a 10%). Como a maior liberação do peróxido ocorre nos 30 min iniciais (Marques et al., 2012), e após este período apenas cerca de 40 a 50% do PC ou PH estão disponíveis na moldeira (Matis et al., 1999; De la Peña et al., 2013), e os estudos clínicos têm mostrado eficácia clareadora semelhante em menores tempos de uso diário (Kugel et al., 2007; Bagheri et al., 2014), o clareamento caseiro também tem sido indicado para o uso durante o dia, com redução do tempo de utilização da moldeira.

Embora a preocupação com a melhoria na aplicação da técnica tenha sido considerada, e a eficácia clareadora seja comprovada (de Silva Gottardi et al., 2006; Kugel et al., 2007; Borges AB et al., 2014), os efeitos adversos sobre os tecidos dentais têm sido relatados pela literatura de forma controversa.

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

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

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

O esmalte amolecido pela erosão é extremamente frágil e a escovação mesmo com poucos ciclos pode remover a camada superficial amolecida do esmalte (Eisenburger et al., 2003). Estudos *in situ* demonstraram que a ação sinérgica do efeito erosivo associado a abrasão por escovação podem levar a perda do tecido dentário (Eisenburger et al., 2003; Hooper et al., 2003). A associação entre erosão

e abrasão tem sido considerada um fator de grande risco para a perda dos tecidos dentais duros (Davis, Winter, 1980; Jaeggi, Lussi, 1999; Attin et al., 2001).

Desta forma, agentes remineralizantes têm sido adicionados aos géis clareadores com o intuito de diminuir estes potenciais efeitos deletérios sobre os tecidos. Em 2005, Oliveira et al., realizaram um estudo avaliando a microdureza superficial do esmalte, após clareamento com PC a 10% com adição de cálcio ou flúor tendo seus estudos demonstrado que, a despeito da adição do cálcio ou do flúor, todos os géis afetaram a microdureza superficial do esmalte. Já Chen et al. em 2008, estudando os efeitos dos agentes clareadores com e sem a adição do flúor na alteração da microdureza do esmalte, puderam concluir que os agentes clareadores contendo flúor produziram menor desmineralização da superfície e alteração da microdureza. Borges et al. (2009) investigaram a microdureza superficial e subsuperficial do esmalte em dentes clareados com gel PH a 35% com a adição de cálcio e flúor, verificando que o clareamento reduziu significativamente a microdureza e que a adição de flúor e cálcio no agente clareador aumentou a microdureza do esmalte clareado.

Também Cavalli et al. (2011) verificaram se a adição de flúor e cálcio no agente clareador (PC 10%) reduziram a perda mineral da superfície e subsuperfície do esmalte, concluindo que sua adição ao clareador foi capaz de minimizar os efeitos adversos do PC na desmineralização do esmalte, assim como a progressão da profundidade da lesão. Pinheiro e Cardoso em 2011, investigando a influência da adição do fosfato de cálcio (ACP) a agentes clareadores para uso caseiro, constataram que os géis com a adição deste componente não diminuíram a dureza do esmalte e da dentina, não promovendo alterações na morfologia destes tecidos. Borges et al. em 2012, analisando o efeito do gel PH 35% modificado ou não pela adição de cálcio ou flúor, na susceptibilidade do esmalte a erosão, puderam constatar que a presença

do cálcio no agente clareador reduziu a susceptibilidade deste tecido ao desenvolvimento da erosão comparado ao grupo clareado com agente sem suplementação de cálcio.

Portanto, a possibilidade de se promover a remineralização no esmalte clareado ou reduzir o potencial de desmineralização destes agentes tem sido investigada, com a adição de cálcio e flúor aos géis clareadores, obtendo-se resultados favoráveis como a manutenção da microdureza do esmalte (Lewinstein et al., 2004; Chen et al., 2008; Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011; Pinheiro, Cardoso, 2011; Borges et al., 2012; Borges et al., 2015).

2.3Abrasão

O termo desgaste dental é comumente utilizado para descrever a perda mineral do tecido dentário duro proveniente de fatores não cariogênicos (Smith, Knight, 1984).

Esta perda está relacionada a um processo multifatorial que envolve fatores químicos e mecânicos. Os termos erosão, abrasão e atrição são utilizados para descrever estes processos que podem atuar de forma sinérgica ou adicional, levando ao desgaste do tecido dentário (Hunter et al., 2002; Litonjua et al., 2003).

A erosão é um processo químico que leva ao amolecimento e dissolução do esmalte quando em contato frequente com substâncias ácidas. Na abrasão ocorre a remoção mecânica do tecido duro pela introdução repetida de objetos estranhos e a atrição está relacionada ao desgaste mecânico do tecido pelo contato constante dos dentes sem nenhuma substância envolvida.

Desta forma, o termo abrasão em odontologia pode ser descrito como a remoção de tecido dental duro pela introdução repetida de objetos estranhos na cavidade oral em contato constante com os dentes, envolvendo um processo de desgaste patológico (Imfeld, 1996). A etiologia da abrasão está relacionada principalmente aos procedimentos de higiene oral, como escovação excessiva, uso de dentífrícios abrasivos, ou também a hábitos como segurar objetos entre os dentes ou exposição ocupacional a agentes abrasivos (Ganss, 2014). A abrasão é considerada um desgaste de três componentes, no qual duas superfícies que se movimentam estão separadas por um agente intermediário (suspensão de partículas abrasivas) que removem estrutura de ambas superfícies (Shellis, Addy, 2014).

Estudos *in situ* demonstraram que a erosão e a abrasão são fatores aditivos e sinérgicos no processo de desgaste da superfície dentária (Eisenburg et al., 2003; Hooper et al., 2003).

Embora a escovação tenha um papel importante na manutenção da saúde oral e a exposição ao flúor, presente nos dentífrícios, seja um meio de proteção, não somente contra as cáries como também à erosão dental, o desgaste abrasivo dos tecidos saudáveis especialmente dos tecidos duros erodidos, pode ser considerado um efeito adverso da escovação (Addy, Hunter, 2003; Magalhães et al., 2014).

O desgaste do esmalte erodido, associado à abrasão por escovação está relacionado à abrasividade do dentífrício (Philpotts et al., 2005) e em menor escala às características das escovas (Wiegand et al., 2008; Wiegand et al., 2009). Adicionalmente, estudos demonstraram que diferentes cargas aplicadas na escova durante a higiene bucal, variavam na capacidade de remover a superfície do esmalte fragilizada pela desmineralização (Wiegand et al., 2006; Wiegand et al., 2007).

A determinação da abrasividade está baseada num método radioativo que fornece a relativa abrasividade no esmalte (REA)

com valores de referência em comparação com um abrasivo (Wiegand et al., 2008) de acordo com a *International Standards Organisation* (ISO)(1995).

Estudos *in vitro* demonstraram que a abrasão do esmalte e da dentina erodida aumentaram com o aumento dos valores do REA ou RDA do dentifrício (De Menezes et al., 2004; Hughes et al., 2008; Wiegand et al., 2008; Hara et al., 2009; Wiegand et al., 2009). Entretanto Ganss et al., 2011, relataram que a interpretação da abrasividade dos dentifrícios é um desafio nos estudos porque os valores de REA e RDA obtidos de diferentes fontes pode variar distintamente.

Quando associada aos efeitos do clareamento dental, a higiene oral diária (escovação com creme dental) e o grau de abrasividade do dentifrício, após a utilização do gel clareador, poderiam intensificar os defeitos sobre a estrutura dental (Engle et al., 2010). Estudos prévios observaram um maior desgaste da dentina clareada após a escovação, embora não observassem alteração significativa no esmalte clareado associado à abrasão (Faraoni-Romano et al., 2009; Engle et al., 2010; Lima et al., 2013).

No entanto, Faraoni-Romano et al., 2009 e Lima et al., 2013, não investigaram a abrasividade de dentifrício, apenas o efeito da abrasão após a utilização do agente clareador. Já Engle et al. (2010), verificaram a abrasividade do dentifrício utilizado, observando que no esmalte, o clareamento não teve significativo efeito sobre a perda de superfície, sendo que as amostras com erosão tiveram maior perda de superfície e o dentifrício mais abrasivo levou a uma perda significativamente maior de superfície que o menos abrasivo. Quanto à dentina para os espécimes submetidos à erosão e expostos a dentifrícios menos abrasivos, o clareamento levou a menor perda de superfície e naqueles com erosão e expostos a dentifrícios mais abrasivos o clareamento não teve efeito significativo na perda de superfície. Concluíram que o clareamento com peróxido de carbamida a 10% não

aumentou a susceptibilidade do esmalte ao desgaste erosivo e abrasivo, independentemente do dentifrício usado. Para a dentina o desgaste foi modulado pela interação entre a erosão, o clareamento e a abrasão.

Também existe uma preocupação quanto ao intervalo ideal entre a remoção do gel clareador e a realização da escovação, para a redução da interação entre o agente clareador e o processo abrasivo sobre os tecidos dentais. Embora Navimipour et al., 2012 não tenham observado mudanças na microdureza do esmalte clareado com PC a 15% imediatamente ou após 1 e 2 h da remoção do agente clareador, um aumento na rugosidade de superfície quando a escovação foi realizada imediatamente após a utilização do gel clareador foi relatada (Navimipour et al., 2013).

De fato, estudos anteriores observaram um aumento da rugosidade quando da associação entre o clareamento dental e a abrasão por escovação (Hilgenberg et al., 2011; Melo et al., 2014).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do clareamento com gel de peróxido de hidrogênio a 7,5% com e sem a adição de gluconato de cálcio, na abrasão do esmalte, utilizando dentifrícios com diferentes graus de abrasividade, bem como o intervalo do tempo decorrido entre a exposição ao agente clareador e a escovação (imediatamente e após 1 h).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

4.1.1 Unidades experimentais

- Foram obtidos 144 espécimes de esmalte a partir de dentes incisivos bovinos.

4.1.2 Fatores em estudo

Um modelo de clareamento dental seguido por abrasão foi utilizado. Este estudo teve três fatores experimentais:

- Tipo de agente clareador em três níveis:

1. Peróxido de hidrogênio 7,5% (PH)
2. Peróxido de hidrogênio 7,5% com adição de gluconato de cálcio a 0,5% (PH+Ca)
3. Controle- sem clareamento (SC)

- Grau de abrasividade do dentífrico em dois níveis, medidos de acordo com os valores de REA:

1. Alto (A)
2. Baixo (B)

- Tempo decorrido entre a ação do agente clareador e a abrasão em dois períodos:

1. Imediatamente após a remoção do agente clareador (IM)
2. Após 1 h da remoção do agente clareador (1H)

4.1.3 Variável de resposta

Desgaste da superfície medido por perfilometria.

4.2 Preparo dos Espécimes

Foram utilizados dentes incisivos bovinos recém-extraídos, obtidos de animais com idade média de três anos. Os dentes foram limpos com curetas periodontais para remover todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície e posteriormente armazenados em solução de timol a 0,1 %, pH 7,0, durante todo o período de preparo dos espécimes de esmalte (Attin et al., 2007).

Os dentes foram seccionados transversalmente ao seu longo eixo, abaixo da junção amelo-cementária para remoção das raízes, utilizando um disco diamantado (Dremel, Racine, Wisconsin, Estados Unidos), acoplado a um torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, Brasil) (Figura 1 A). As polpas dentais foram extirpadas utilizando limas endodônticas e a câmara pulpar foi irrigada com água deionizada para remoção de detritos.

As coroas dentais foram fixadas em uma base posicionadora para permitir o corte de amostras cilíndricas de esmalte, a partir da sua superfície vestibular, utilizando uma broca trefina com 3 mm de diâmetro interno revestida por diamante, por meio de um equipamento para corte circular de amostras (Figuras 1 B e C).

Na sequência, os espécimes foram inseridos em uma matriz de silicone com 6 mm de diâmetro e 3,1 mm de profundidade. No fundo da matriz havia uma cavidade em um segundo nível com 3 mm de diâmetro e 0,1 mm de profundidade. Na lateral da matriz havia uma projeção em forma de linha curva produzindo um sulco lateral no espécime, para auxiliar o correto posicionamento da amostra durante a leitura do perfil (Figura 1 D). Os espécimes foram posicionados no interior desta cavidade interna com a superfície do esmalte voltada para o fundo do molde (Figura 1 E). O molde foi então preenchido com resina acrílica auto polimerizável de cor rosa (Jet, Clássico artigos odontológicos LTDA, Campo Limpo Paulista, São Paulo, Brasil) (Figura 1 F) e levado a uma polimerizadora de resina acrílica (City máquinas equipamentos para prótese e materiais, Guarulhos, São Paulo, Brasil), imerso em água e submetido a uma pressão de 30 psi até a total polimerização, desta forma, evitando bolhas no interior na resina acrílica devido à pressão, proporcionando uma superfície com menor número de defeitos (Figuras 1G e 1 H). Dessa forma foram obtidos espécimes de esmalte embutidos em resina acrílica, com a exposição de uma área padronizada do esmalte (Figura 1 I).

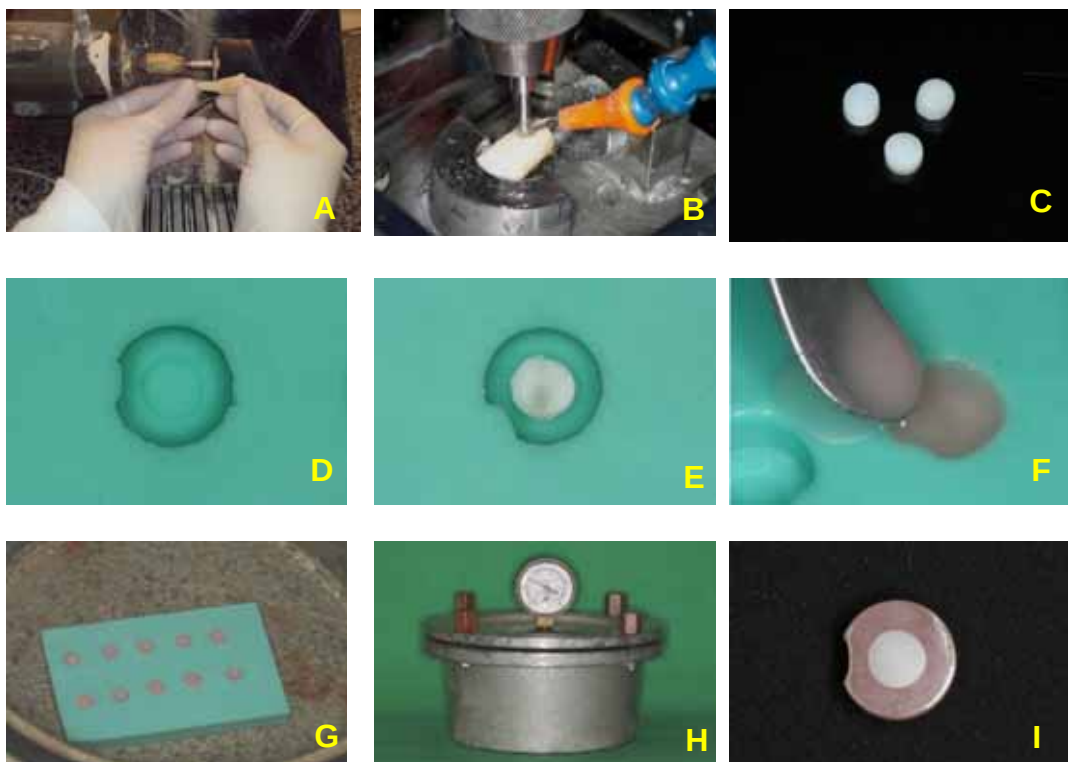


Figura 1 - A) Separação da coroa-raiz em torno de alta rotação; B) Corte dos espécimes de esmalte no equipamento para corte circular; C) Espécime de esmalte após recorte de 3 mm de diâmetro; D) Matriz de silicone com cavidade de 0,1 mm de profundidade em segundo nível; E) Posicionamento do espécime com a superfície do esmalte voltada para o fundo do molde; F) Preenchimento do molde com resina acrílica; G) Molde com espécimes colocados no interior da polimerizadora de resina; H) Polimerizadora de resina com pressão de 30 psi; I) Espécime após o embutimento.

Os espécimes foram posicionados em um dispositivo de metal para facilitar o polimento, com um orifício central com 6 mm de diâmetro, o qual contém uma cavidade em um segundo nível com 3 mm de diâmetro para acomodar a projeção dos espécimes, cuja profundidade foi ajustada em 3 mm (Figura 2 A). Primeiramente foi realizado o desgaste da base do espécime sendo posicionado com a face do esmalte voltada para a superfície interna do dispositivo (Figura 2 B). O conjunto foi posicionado sobre a plataforma giratória da politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), sendo utilizada lixa de carbeto de silício de granulação P1200 (Extec Corp, Enfield, Connecticut, USA), para a remoção dos excessos da resina acrílica e padronização da espessura

(Figura 2 C). Em seguida o espécime foi posicionado em um outro dispositivo para polimento, semelhante ao anterior, mas sem a cavidade em segundo nível, com a face de esmalte voltada para a superfície externa do dispositivo, para realizar a planificação do espécime, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de metal no qual foram fixados (Figura 2 D e E). O conjunto foi novamente posicionado sobre a plataforma giratória da politriz circular, sendo utilizadas lixas de carbeto de silício de granulação P1200, P2400 e P4000 (Extec Corp, Enfield, Connecticut, USA), sob refrigeração com água por 30 s, 60 s e 2 min, respectivamente (Figura 2 F) e depois das lixas um disco de feltro foi utilizado com uma suspensão polidora de 1 μm (DP-Suspension, M- Strues) para lisura final dos espécimes durante 2 min.

Entre as trocas de lixas e depois da suspensão, os espécimes foram lavados em banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) durante 10 min, com água deionizada (200 ml), a fim de remover resíduos de grãos de abrasivo que poderiam interferir na lisura da superfície polida (Figura 2 G).

As superfícies dos espécimes polidos foram analisadas em estereomicroscópio (Carl Zeiss – Stemi 2000 -20X) e as que apresentaram trincas e imperfeições foram descartadas.

Foram realizados dois sulcos paralelos na superfície dos espécimes, sobre a resina acrílica e lateralmente à superfície de esmalte, utilizando um dispositivo projetado em uma pequena mesa de coordenadas XY, com uma base giratória, contendo uma ponta de aço (Figura 2 H). Estas marcações paralelas serviram como guias para orientação quando da sobreposição dos gráficos resultantes das leituras dos perfis obtidos para análise do desgaste da superfície (Figura 2 I).

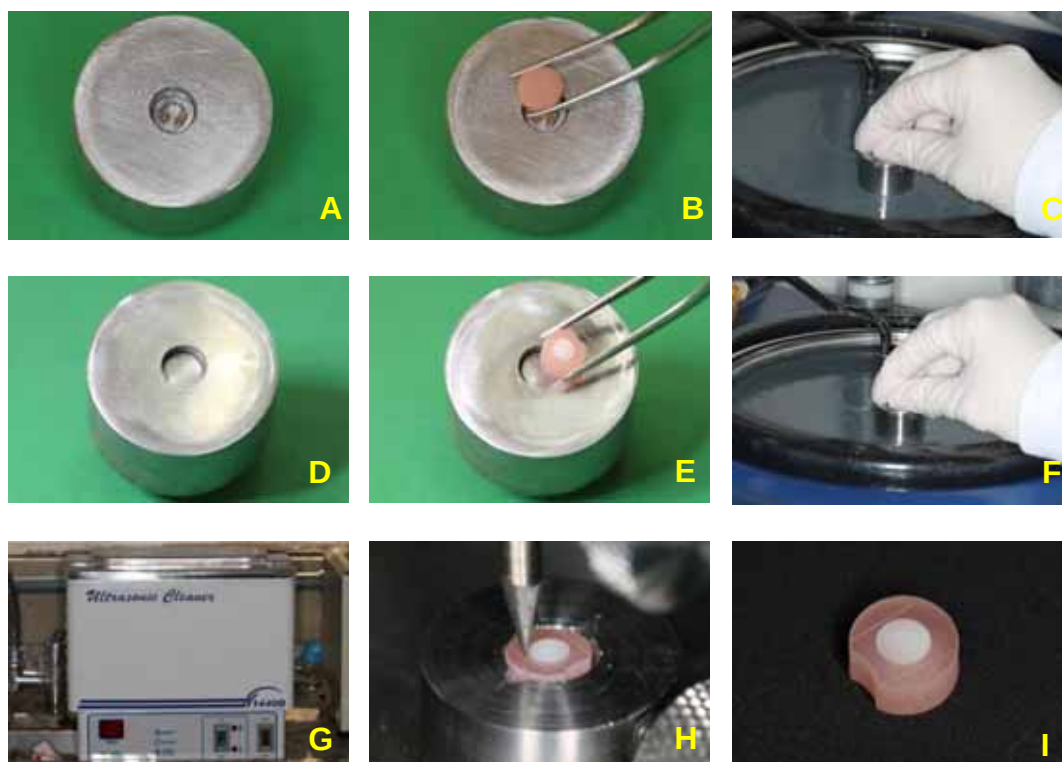


Figura 2 - A) Dispositivo metálico para polimento da base do espécime com uma cavidade em segundo nível para acomodar a projeção de esmalte; B) Espécime posicionado em dispositivo metálico para desgaste da base; C) Polimento em politriz circular para desgaste da base; D) Dispositivo metálico para polimento da superfície de esmalte; E) Espécime sendo posicionado para polimento do esmalte; F) Polimento em politriz circular para planificação do esmalte, G) Banho ultrassônico; H) Marcação de duas linhas paralelas entre si no espécime, I) Espécime com as marcações realizadas.

Foram então medidos os perfis iniciais da superfície dos espécimes utilizando um perfilômetro (MarSurf GD 25, Mahr – Goettingen, Alemanha) (Figura 3- A, B, C) associado a um software (MarSurf XCR 20 4.50-07 SP3), sendo realizadas três varreduras com extensão de 4,20 mm a uma distância de 0,25 mm entre elas, sendo previamente programadas no software do perfilômetro (Figura 4). Um exemplo de perfil inicial pode ser visto na figura 5.



Figura 3 - A) Dispositivo posicionador; B) Espécime posicionado no sulco lateral; C) Leitura no perfilômetro de contato.

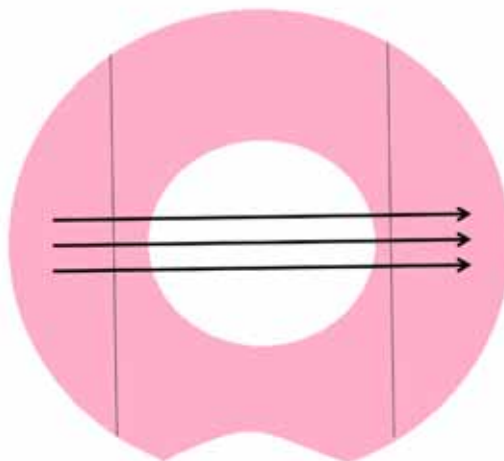


Figura 4 - Esquema representativo das três varreduras realizadas durante a leitura no perfilômetro (0,25mm entre as leituras)

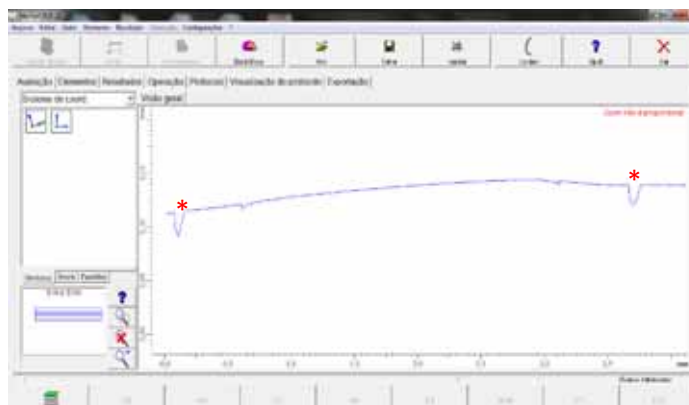


Figura 5 - Visualização gráfica do perfil inicial obtido pelo software MarSurf XCR 20.
(*) Marcações dos sulcos paralelos realizados nos espécimes observadas no gráfico.

4.3 Protocolo de Estudo *in Vitro*

Foram utilizados 144 espécimes de esmalte bovino, distribuídos em 12 grupos ($n = 12$), descritos abaixo de acordo com o tipo de agente clareador (PH e PH+Ca) ou sem o agente clareador (SC), o tipo de abrasivo (alto e baixo) e o tempo para escovação (imediatamente após ou após 1 hora):

- Grupo SC+A+IM: sem clareamento, alto abrasivo, escovação imediata;
- Grupo SC+B+IM: sem clareamento, baixo abrasivo, escovação imediata;
- Grupo SC+A+1H: sem clareamento, alto abrasivo, escovação após 1h;
- Grupo SC+B+1H: sem clareamento, baixo abrasivo, escovação após 1h;
- Grupo PH+A+IM: clareamento PH 7,5%, alto abrasivo; escovação imediata;

- Grupo PH+B+IM: clareamento PH 7,5%, baixo abrasivo, escovação imediata;
- Grupo PH+A+1H: clareamento PH 7,5%, alto abrasivo, escovação após 1h;
- Grupo PH+B+1H: clareamento PH 7,5%, baixo abrasivo, escovação após 1h;
- Grupo PH+Ca+A+IM: clareamento PH+Ca, alto abrasivo, escovação imediata;
- Grupo PH+Ca+B+IM: clareamento PH+Ca, baixo abrasivo, escovação imediata;
- Grupo PH+Ca+A+1H: clareamento PH+Ca, alto abrasivo, escovação após 1h;
- Grupo PH+Ca+B+1H: clareamento PH+Ca, baixo abrasivo; escovação após 1h.

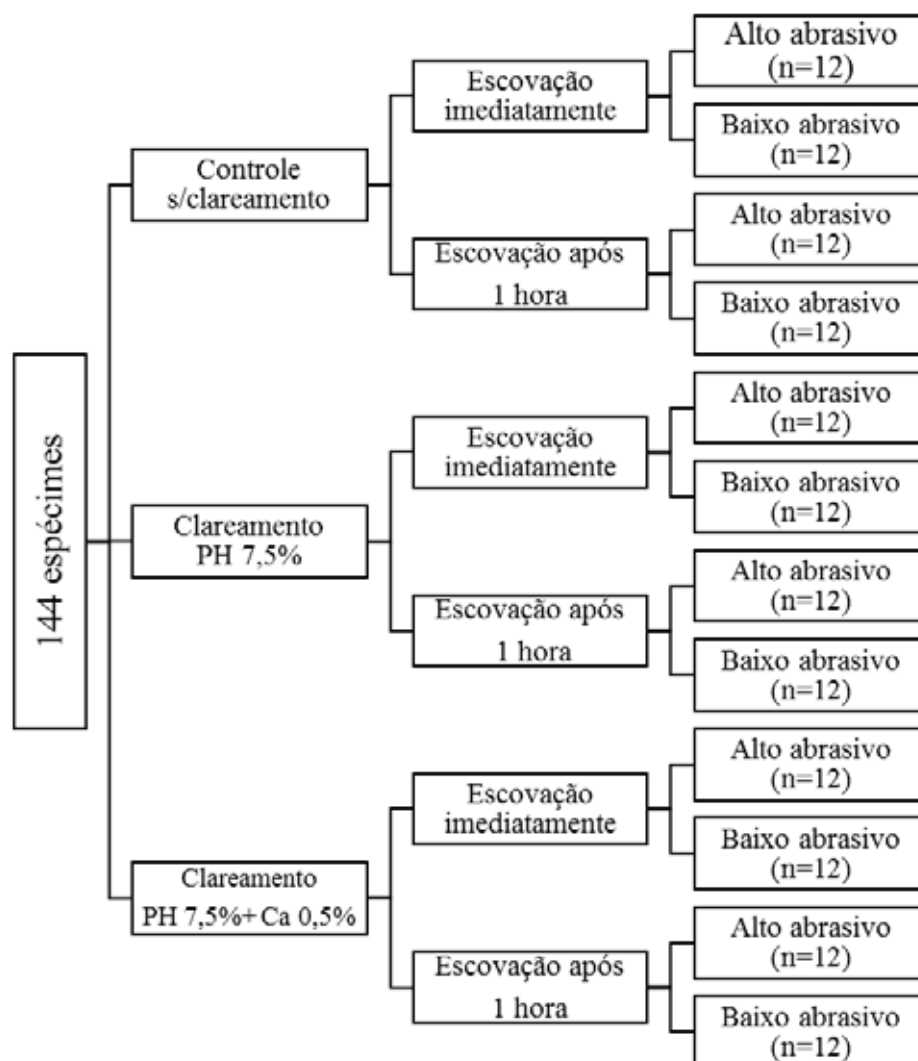


Figura 6- Esquema da divisão dos grupos para o substrato testado.

4.3.1 Procedimentos clareador e abrasivo

O gel clareador (peróxido de hidrogênio 7,5% associado ou não ao cálcio) foi depositado sobre a superfície do esmalte com uma seringa acoplada com agulha hipodérmica, numa camada de aproximadamente 15 μm (0,015 ml) do gel, que permaneceu em contato por 1 h diariamente, sob umidade relativa. Decorrido o tempo diário de permanência, o gel foi sugado e a superfície lavada com água destilada durante 20 s. Nos

grupos controle (sem clareamento), os espécimes permaneceram em umidade relativa durante o período correspondente ao clareamento dental.

Decorrido o tempo diário de permanência do gel, os espécimes foram levados ao equipamento utilizado para simulação da escovação modelo MEV-2T (Odeme Equipamentos Médicos e Odontológicos Ltda. – Joaçaba, SC, Brasil) e distribuídos de acordo com a abrasividade do dentífrico (alto ou baixo) nos diferentes tempos após o clareamento (imediatamente e após 1 h). Então, os espécimes foram submetidos a 45 ciclos de escovação, correspondentes a 3x ao dia (135 ciclos por dia- 1 min e 30 s) (Engle et al., 2010). Estes procedimentos (clareamento seguido de abrasão) foram repetidos por 7 dias, totalizando 1890 ciclos ao final do estudo. O equipamento possui um braço de aço inoxidável e faz movimentos de vaivém, com amplitude de movimento de 3,8 cm e 200 g de peso, com um sensor controlador de temperatura, que possibilita a escovação em um ambiente termicamente semelhante à cavidade bucal (37 °C). As escovas (Sanifill Ultra Profissional- 39- média) foram cortadas no limite entre o cabo e a cabeça, e adaptadas na máquina de escovação, apoiadas sobre os corpos-de-prova, inclinadas a 15° em relação à superfície das amostras, para que toda a superfície entrasse em contato com as cerdas da escova. Os espécimes foram dispostos em nichos de aço inoxidável imersos nos *slurries* (suspensão contendo abrasivo, simulando o dentífrico) de acordo com a abrasividade.

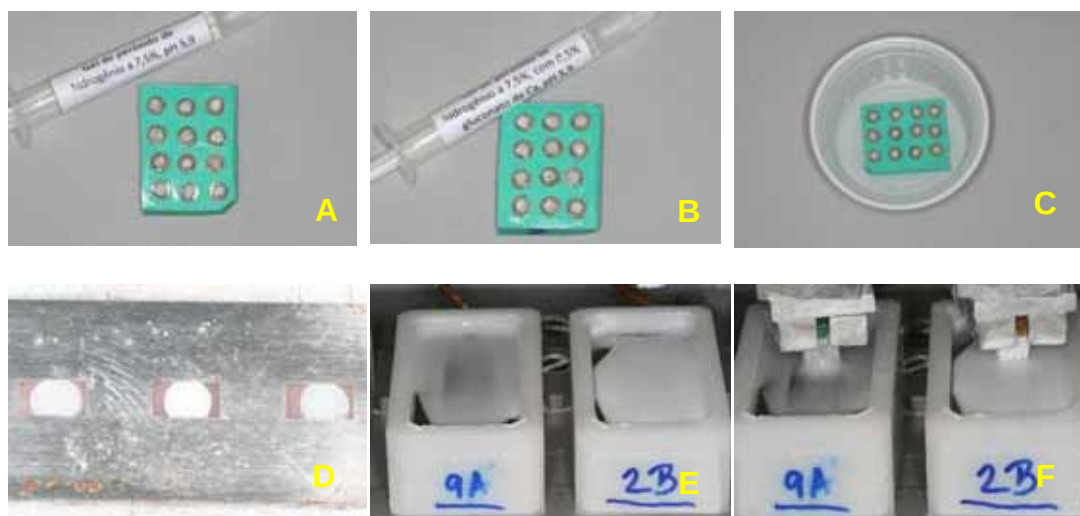


Figura 7 - A) Gel clareador peróxido de hidrogênio aplicado nos espécimes; B) Gel clareador peróxido de hidrogênio com adição de cálcio nos espécimes; C) Espécimes em saliva durante o intervalo de 1h para escovação; D) Espécimes colocados em suporte metálico para escovação E) *Slurries* depositados sobre os espécimes para início da escovação, F) Escovação dos espécimes na máquina de escovação.

A solução-base para os *slurries* foi preparada de acordo com o descrito na Tabela 1. Nesta solução, foram adicionados os abrasivos, conforme especificados na Tabela 2.

Tabela 1- Solução base de Carboximetilcelulose (CMC) para preparo dos *slurries*

VOLUME	CMC (g)	GLICEROL (g)	DI H ₂ O (g)
2l	10	200	1788

Tabela 2- Composição dos abrasivos utilizados para simulação dos *slurries*

TIPO DE ABRASIVO	GRAU DE ABRASIVIDADE	CONCENTRAÇÃO	REA (DP)
Zeodent 113	Baixo	10%	4.45(0.46)
Zeodent 103	Alto	10%	5.49(0.43)

Os *slurries* foram preparados na proporção 1:3, ou seja, uma parte do abrasivo para três da solução-base de CMC.

Para o estudo do tempo decorrido entre o clareamento e a escovação, as amostras dos grupos que aguardaram o intervalo de 1 hora ficaram depositadas na saliva artificial.

A saliva artificial que foi utilizada durante todo experimento tem a seguinte composição (ten Cate et al., 2006): cloreto de cálcio (0,213 g); fosfato de potássio (0,738 g); cloreto de potássio (1,114 g); KCl; cloreto de sódio (0,381 g), Tris buffer (12 g) para cada litro, ajustado em pH 7,0 com KCl 1M.

O regime de tratamento diário dos espécimes está descrito na Tabela 3.

Tabela 3- Regime de tratamento diário dos espécimes

ETAPAS	PROCEDIMENTOS	TRATAMENTOS
1	Gel clareador	PH 7, 5% (pH 5, 62) - 1 h. PH 7, 5% + Ca 0, 5% (pH 5, 60) - 1 h. Controle (sem clareamento)- umidade relativa
2	Remineralização	Saliva artificial (1 h)
3	Abrasão	Imediatamente- alto abrasivo (1 min 30 s) Imediatamente- baixo abrasivo (1 min 30s) 1 h após -alto abrasivo (1 min 30 s) 1 h após- baixo abrasivo (1 min 30 s)
Os passos foram repetidos por 7 dias		
Armazenamento em umidade relativa nos intervalos diários		

4.3.2 Avaliação do desgaste superficial

Após o término dos tratamentos (7 dias), os perfis finais das superfícies foram medidos utilizando o perfilômetro de contato (MarSurf XCR 20, Mahr-Goettingen, Alemanha) seguindo os mesmos parâmetros descritos previamente para as leituras iniciais. O dispositivo metálico descrito anteriormente (Figura 3) proporcionou o reposicionamento exato das amostras, a fim de permitir a comparação dos perfis medidos em diferentes tempos (inicial e final). Após a obtenção do perfil final, foi realizada a sobreposição das imagens obtidas nos diferentes tempos (Figura 8). Foram realizadas 3 varreduras por espécime, calculada a diferença de altura (μm) entre o perfil inicial e o final e obtido um valor médio desta diferença. O desgaste da estrutura dental foi calculado após a sobreposição dos perfis inicial e final, utilizando um software fornecido pelo fabricante do equipamento (MarSurf XCR 20 4.50-07 SP3).

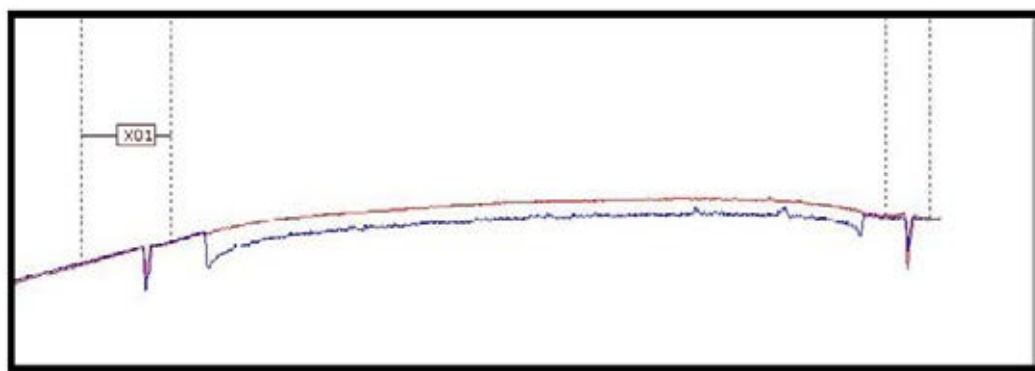


Figura 8- Sobreposição do perfil inicial (vermelho) e o perfil final (azul)

4.4 Planejamento Estatístico

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

- a) H_{01} – O tipo de gel clareador (com e sem cálcio) não interfere na susceptibilidade do substrato ao desgaste abrasivo;
- b) H_{02} - O grau de abrasividade do dentífrico não interfere no desgaste;
- c) H_{03} – O intervalo entre a escovação e o clareamento não interfere no desgaste.

Os valores de desgaste (μm) da superfície do esmalte no final do experimento serviram como parâmetros da avaliação. Foram utilizados os testes estatísticos ANOVA 3 fatores e Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

Os dados de média e desvio-padrão obtidos para os diferentes grupos analisados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Dados da média (μm) e desvio-padrão ($\pm\text{DP}$) para o desgaste da superfície do esmalte

GRUPOS	MÉDIA	$\pm\text{DP}$
SC+B+1H	0,21	0,03
PH+Ca+B+1H	0,27	0,02
SC+A+1H	0,35	0,04
PH+Ca+A+1H	0,41	0,02
SC+B+IM	0,46	0,02
PH+Ca+B+IM	0,52	0,02
PH+B+1H	0,54	0,05
PH+B+IM	0,65	0,05
PH+A+1H	0,66	0,02
SC+A+IM	0,77	0,05
PH+Ca+A+IM	0,84	0,09
PH+A+IM	1,41	0,14

O gráfico das médias para os dados obtidos com a leitura após os tratamentos realizados está apresentado na Figura 9, onde se pode observar o desempenho obtido pelos diferentes grupos.

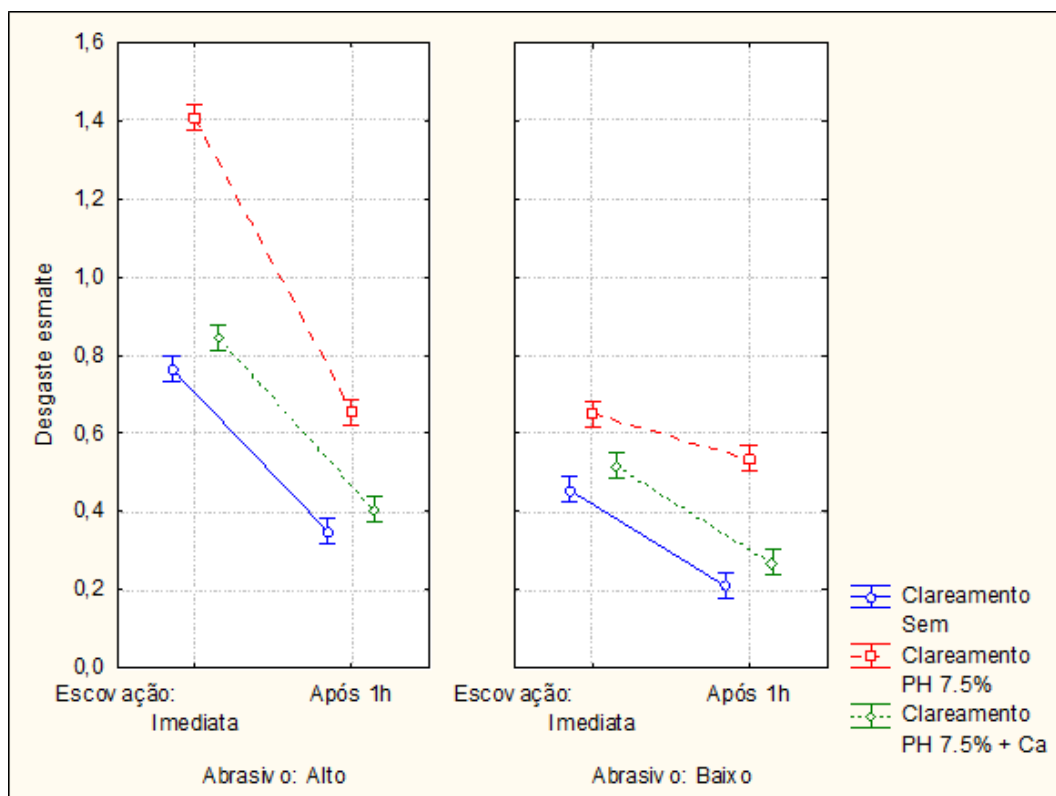


Figura 9 - Gráfico das médias para os grupos testados.

Para comparação entre os grupos, foi aplicado o teste Análise de Variância (ANOVA 3 fatores), onde foi observada diferença significativa para os diferentes fatores conforme mostrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultado dos dados de desgaste ANOVA (três fatores)

	SS	DEGR.	MS	F	P
Intercept	49,97704	1	49,9770	15222,9	0,00001*
Clareamento	3,71345	2	1,85673	565,56	0,00001*
Escovação	4,91115	1	4,91115	1495,93	0,00001*
Abrasivo	3,20410	1	3,20410	975,96	0,00001*
Claream*Escovação	0,07632	2	0,03816	11,62	0,00022*
Claream*Abrasivo	0,35724	2	0,17862	54,41	0,00001*
Escov*Abrasivo	1,00445	1	1,00445	305,95	0,00001*
Claream*Escov*Abras	0,42336	2	0,21168	64,48	0,00001*
Error	0,43336	132	0,00328		

*p<0,05

Os dados de desgaste da superfície do esmalte após sete dias de procedimento clareador e desafio abrasivo foram analisados por meio do teste de Tukey que constatou diferença significativa entre os grupos.

Com relação aos dados obtidos quanto à ação do gel clareador na superfície do esmalte, os grupos que foram clareados exibiram um maior desgaste que o grupo controle (SC), sendo que o grupo com PH + Ca exibiu valores intermediários, conforme visto na Tabela 6.

Tabela 6- Dados da média (μm) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) do teste de Tukey para o clareamento

GRUPOS	MÉDIA	DP	GRUPOS HOMOGÊNEOS
SC	0,45	0,01	A
PH+Ca	0,51	0,03	B
PH	0,82	0,01	C

* $p < 0,05$

Para o tempo decorrido entre a remoção do agente clareador e a escovação, também houve diferença significativa entre os grupos estudados, ou seja, o grupo com escovação imediata exibiu maior desgaste, conforme mostra a Tabela 7.

Tabela 7- Dados da média (μm) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) do teste de Tukey para a escovação

GRUPOS	MÉDIA	DP	GRUPOS HOMOGÊNEOS*
Após 1 hora	0,41	0,01	A
Imediato	0,77	0,05	B

* $p < 0,05$

Quando foi analisado o tipo de abrasivo, houve diferença significativa entre os grupos testados, sendo que o *slurry* contendo alta abrasividade levou a um maior desgaste, conforme Tabela 8.

Tabela 8- Dados da média (μm) e desvio padrão ($\pm\text{DP}$) do teste de Tukey para o tipo de abrasivo

GRUPOS	MÉDIA	DP	GRUPOS HOMOGÊNEOS*
Baixo	0,44	0,01	A
Alto	0,74	0,05	B

* $p < 0,05$

Para a interação entre o clareamento, o tipo de abrasivo e o tempo decorrido para a escovação, os grupos SC + B + 1H e PH + Ca + B + 1H apresentaram os menores valores de desgaste diferindo significativamente dos demais grupos. Os grupos SC + A + IM, PH + Ca + A + IM e o grupo PH + A + IM apresentaram os maiores valores de desgaste, significativamente. Os demais grupos não diferiram entre si, conforme apresentado na Figura 10.

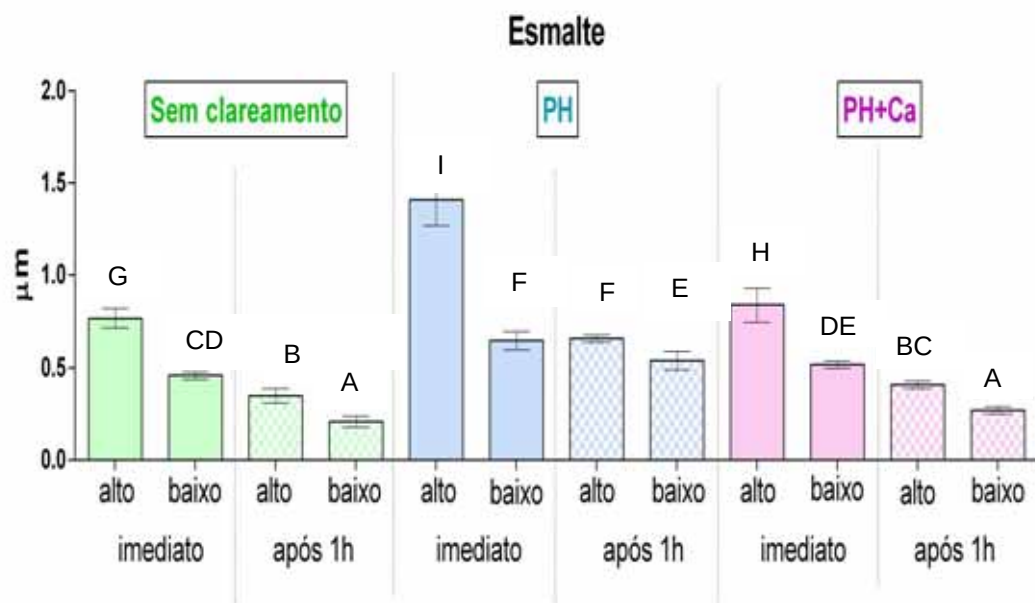


Figura 10 - Gráfico das médias (desvio-padrão) e apresentação dos grupos homogêneos para a interação dos fatores testados.

6 DISCUSSÃO

Os dentes permanentes humanos foram projetados para durar uma vida toda. São revestidos pelo esmalte dentário que é considerado um dos tecidos mais duros do corpo humano e estão presentes em um ambiente oral que lhes confere estabilidade e proteção, pela presença da saliva e da película adquirida (West, Joiner, 2014).

Entretanto, apesar das características de resistência inerentes do tecido e a capacidade protetora do ambiente oral, uma variedade de outros fatores pode interferir e causar a perda mineral e tecidual do esmalte dentário. Estes fatores incluem ácidos provenientes de bactérias presentes na placa, pelo metabolismo e fermentação de carboidratos provenientes da dieta ou processos de desgaste, como os desencadeados pela erosão devido à presença dos ácidos de origem intrínseca ou extrínseca e/ou injúrias físicas, como a abrasão e a atrição, resultando em uma perda mineral que pode levar à degradação da superfície e subsuperfície do esmalte (West, Joiner, 2014).

Assim, as lesões de abrasão são decorrentes do desgaste patológico do tecido dental duro, por meio de processos mecânicos anormais, que envolvem substâncias ou objetos estranhos, introduzidos repetidamente na boca e que entram em contato com os dentes (Imfeld, 1996).

Neste estudo utilizou-se a perfilometria por contato para avaliação do desgaste do tecido após 7 dias de procedimento clareador e abrasivo, sendo este método o mais frequentemente utilizado para avaliar as perdas superficiais das estruturas dentais (Field et al., 2010). A ponta diamantada contactava com a superfície, tendo como referência a resina acrílica que foi utilizada para o embutimento. As leituras obtidas antes e

após os tratamentos testados foram sobrepostas, utilizando como guia as marcações paralelas realizadas na superfície da resina durante o preparo dos espécimes, permitindo a subtração das imagens, sendo obtido um valor em altura referente ao desgaste dental. No entanto, esta análise só foi possível porque os espécimes puderam ser reposicionados exatamente no mesmo local durante as leituras. De fato, Attin et al. (2009-a) enfatizaram a importância do reposicionamento das amostras para mensurações repetidas, bem como de um software apropriado para realizar as análises.

Optou-se pelo uso do substrato bovino devido à maior facilidade para obtenção e padronização das amostras. Além disso, a maior área de superfície dos dentes bovinos facilita sua manipulação e os procedimentos de preparo dos espécimes. Embora existam diferenças entre o substrato humano e bovino, o conteúdo de cálcio por peso é semelhante (36,8% e 37,9%, respectivamente), sendo a distribuição de cálcio mais homogênea no esmalte bovino comparado com o esmalte humano (Davidson et al., 1973). Observou-se que a relação Ca/P do esmalte humano e bovino em estudos de desmineralização e remineralização foi afetada de forma semelhante para os dois substratos (Feagin et al., 1969). Embora tenham sido encontradas estas diferenças, Attin et al. em 2007, comparando os diferentes tipos de dentes em estudos de abrasão, não encontraram perda de esmalte significativamente diferente entre estes substratos. Desta forma, a substituição do esmalte humano pelo bovino têm sido utilizado testando a susceptibilidade do esmalte dental ao desgaste erosivo/abrasivo (Rios et al., 2006), resultando em dados válidos e aceitáveis, embora a extrapolação dos resultados para a realidade clínica deva ser realizada com critério (Laurance-Young et al., 2011).

Os efeitos adversos resultantes da aplicação de agentes clareadores no esmalte dental é objeto de investigação em diversos estudos, neles é relatada perda de cálcio e queda dos valores de

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

Embora controversa, a possível perda mineral resultante da ação de agentes clareadores sobre o esmalte poderia, eventualmente, contribuir para a etiologia da cárie e erosão dental (Ren et al., 2009), sendo que a camada do dente desmineralizada o torna mais susceptível aos efeitos deletérios da abrasão (Lussi et al., 2011). Assim, a possibilidade de ocorrerem alterações químicas, estruturais e mecânicas resultantes da ação dos agentes clareadores sobre o esmalte dental tem motivado a realização de estudos sobre a associação do tratamento clareador à susceptibilidade à erosão e abrasão dental. Além disso, foi ainda observado previamente que agentes clareadores podem exercer um efeito erosivo sobre a superfície do esmalte dental (Chen et al., 2008; Ushigome et al., 2009).

No presente trabalho, foram avaliados os efeitos do clareamento dental associado à abrasão no desgaste superficial do esmalte. Observou-se que a aplicação do gel clareador à base de PH 7,5% associado ao desafio abrasivo durante sete dias apresentou significativamente maior desgaste que nos demais grupos. O grupo clareado com PH + Ca ocupou uma posição intermediária e o grupo controle sem a exposição ao agente clareador resultou em menor

desgaste do esmalte. Desta forma, foi rejeitada a primeira hipótese de nulidade.

A ação oxidativa decorrente da aplicação de peróxido de hidrogênio na estrutura dental ocorre pela ação dos radicais livres gerados pela decomposição do peróxido e esta reação é não-específica, portanto, existe ação não somente sobre os pigmentos presentes no dente, mas também sobre a estrutura orgânica dos tecidos (Hegedüs et al., 1999). Pelo fato do pequeno conteúdo orgânico do esmalte atuar sobre a integridade deste tecido, estas alterações podem resultar, conseqüentemente, em alterações também sobre seu conteúdo mineral.

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

Agentes com potencial remineralizante como o cálcio, são adicionados aos géis clareadores visando reduzir a solubilidade do esmalte, promover sua remineralização e também como tentativa de se reduzir a sensibilidade dental (Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011). Estudos demonstram que durante o tratamento clareador o esmalte perde íons cálcio e fosfato para o meio bucal (McCracken, Haywood, 1996; Rotstein et al., 1996; Pinto et al., 2009; Pinheiro, Cardoso, 2011). A presença de altas concentrações deste agente remineralizante nos géis clareadores pode minimizar o potencial desmineralizante do agente clareador sobre o esmalte dental e, eventualmente, promover a incorporação dos mesmos no esmalte desmineralizado (Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011). Além disso, o efeito protetor destes agentes com potencial remineralizante contra a ação erosiva no esmalte também

têm sido pesquisada (Austin et al., 2010; Wegehaupt, Attin, 2010; Borges et al., 2012).

Nas amostras clareadas com agente clareador suplementado com cálcio, observou-se uma redução nos valores de desgaste superficial comparados com o grupo clareado apenas com PH a 7,5%. Embora íons cálcio e fosfato, necessários para o processo de remineralização, estejam naturalmente presentes na saliva, a presença de cálcio no gel clareador visa atuar como uma fonte suplementar destes íons no meio bucal. Este modelo de ação na abordagem preventiva objetiva aumentar a resistência do tecido duro ao desgaste. Portanto, o gel contendo cálcio possivelmente foi capaz de manter a saturação de íons cálcio do dente, provavelmente reduzindo sua perda durante o clareamento (Borges et al., 2009; Cavalli et al., 2011), o que resultou em menor susceptibilidade ao desgaste frente ao desafio abrasivo subsequente. O cálcio também tem sido adicionado a bebidas ácidas (como o suco de laranja) com a finalidade de reduzir o desgaste do esmalte quando submetido aos processos de erosão e abrasão, com resultados satisfatórios quando comparado com o suco não modificado (sem cálcio) (Wegehaupt et al. 2011).

Outro fator estudado foi a abrasividade do dentífrico, sendo constatado neste estudo que o dentífrico com alto grau de abrasividade (REA), promoveu maior desgaste da superfície do esmalte, sendo rejeitada a segunda hipótese de nulidade.

Nos últimos anos, o clareamento dos dentes é um dos setores que mais cresce dentre os cuidados para com a cavidade bucal, alimentado pela demanda dos consumidores em ter um sorriso saudável e esteticamente atraente. Para a maioria das pessoas, a aparência dos dentes é muito importante e qualquer alteração de cor ou presença de mancha pode ser uma forma de afetar sua qualidade estética (Joiner et al., 2002).

Portanto, os dentífricos clareadores também são utilizados visando alterar a cor dos dentes, sendo o potencial abrasivo seu principal mecanismo de ação para remover e/ou prevenir manchas extrínsecas (Alshara et al., 2014). Para isto, requerem um certo grau de abrasividade.

Embora a abrasividade esteja relacionada à capacidade de prevenir e reduzir a presença de manchas ao longo dos anos (Dawson et al., 1998), esta precisa ser moderada, para que não cause o desgaste do conteúdo mineral, tanto no esmalte como na dentina (Hunter et al., 2002). Assim, os fabricantes devem se esforçar para desenvolver formulações que maximizem a limpeza e minimizem os danos aos tecidos duros (Joiner et al., 2002).

Estudos demonstram que a escovação com dentífrico tem um potencial de injúria nos tecidos dentais duros em virtude do seu grau de abrasividade, portanto, este vem sendo objeto de preocupação quanto ao seu potencial de desgaste nos tecidos (Joiner et al., 2002).

O padrão internacional mais amplamente utilizado para a determinação da abrasividade de uma pasta de dentes é o da Organização Internacional de Normatização (ISO). Este padrão (ISO 11609) foi revisto pela última vez em 1995, e esta norma define 2 métodos para determinar a abrasividade nos tecidos: o método radiofármaco e o método perfilométrico. O potencial abrasivo é calculado com relação a um creme dental abrasivo padrão para dar a abrasividade relativa na dentina (RDA) e os valores da abrasividade relativa no esmalte (REA). O método mais utilizado para determinar RDA e REA é o método radiofármaco descrito por Hefferren em 1976.

Os limites máximos estabelecidos para abrasividade na dentina tanto para o método radiofármaco como o perfilométrico, não devem ultrapassar 2,5 vezes mais que o padrão de referência de abrasão. Para o esmalte, o padrão ISO apenas define um limite para o valor abrasividade nos dentífricos com um valor de pH da pasta que não devem

ser superior a 4 vezes a do abrasivo referência para o método de perfilometria e não mais que o dobro do abrasivo referência se o método radiofármaco for utilizado (Hunter et al., 2002).

Em nosso estudo não foram testados dentifrícios comerciais, mas sim preparados *slurrys* com graus de abrasividade alto (REA: 5,49) e baixo (REA: 4,45) conhecidos. Isto foi determinado para se evitar que os demais componentes dos dentifrícios (detergentes, flavorizantes, solventes, umectantes, edulcorantes, conservantes, fluoretos, triclosan, clorexidina, cloreto de cetilperidínio, dessensibilizantes, anticáculos) (Martins et al., 2012) pudessem eventualmente atuar como fatores confundidores, que poderiam interferir no desgaste da estrutura dental.

Turssi et al. (2004) utilizaram um dentifrício clareador e um regular (sem potencial clareador) comercialmente distribuídos, mas não descreveram os valores de REA. As amostras de esmalte testadas passaram pelo processo de erosão/abrasão ou apenas pela abrasão. Encontraram diferença significativa no desgaste quando foi realizada somente a abrasão, tendo um perda de tecido significativamente maior com a utilização da pasta clareadora. Já para os espécimes que foram expostos a erosão/abrasão, o desgaste não teve diferença significativa quando da utilização dos dois dentifrícios, embora tenha ocorrido um maior desgaste em ambas as situações somente para abrasão. Embora o REA neste estudo não tenha sido estabelecido, o potencial de desgaste ao tecido tende a se assemelhar com nosso estudo, se pudermos considerar a pasta clareadora com propriedades mais abrasivas que a regular.

Já Wiegand et al. (2008) estabeleceram os valores de REA para verificar o potencial de abrasividade relacionada ao desgaste do esmalte. Três *slurries* experimentais foram utilizados com valores considerados: baixo (REA: 2), médio (REA: 6) e alto (REA: 9), e

verificaram que a perda de esmalte foi influenciada principalmente pela abrasividade da pasta de acordo com seu maior valor de REA.

Embora Engle et al. (2010), não tenham encontrado diferença significativa para o desgaste do esmalte na interação entre os fatores estudados (clareamento x erosão/abrasão x abrasividade do dentífrico), puderam constatar que o *slurry* com maior potencial abrasivo (REA: 8,4) resultou uma maior perda de tecido que o mais baixo (REA: 6,5).

Em nosso estudo, embora tivéssemos valores de REA diferentes dos outros estudos, também pudemos constatar uma maior perda de tecido, mediante um maior valor de REA. Nem todos os estudos estabelecem os valores de REA e os valores podem variar muito dependendo da fonte onde são obtidos, o que torna um desafio a interpretação dos resultados (Ganss et al., 2011).

Entretanto, os estudos *in vitro* demonstram que as alterações nos tecidos duros são influenciadas, principalmente, pela abrasividade do dentífrico e, em menor medida, pelas propriedades das escovas e que, quanto maiores os valores de REA ou RDA, maior a capacidade de desgaste nos tecidos duros (Philpotts et al., 2005; Wiegand et al., 2008; Wiegand et al., 2009; Magalhães et al., 2014).

Outro fator estudado foi se o intervalo de tempo entre a remoção do gel clareador e a escovação poderia interferir no desgaste da superfície do esmalte. Foi observada maior perda superficial quando a escovação foi realizada imediatamente após a aplicação do gel clareador, comparada com a escovação após uma hora, sendo portanto, rejeitada a terceira hipótese de nulidade.

Os efeitos do potencial remineralizante da saliva após a aplicação do gel clareador foram também investigados em um estudo prévio, no qual observou-se um aumento dos efeitos deletérios sobre a rugosidade do esmalte clareado quando a escovação foi realizada imediatamente ou após o clareamento, comparado a quando houve um

intervalo de uma ou duas horas após a remoção do gel clareador sobre a rugosidade do esmalte clareado (Navimipour et al., 2013). No entanto, os mesmos autores não verificaram alteração da microdureza do esmalte clareado quando compararam a escovação imediata ou após uma ou duas horas de intervalo da aplicação do agente clareador (Navimipour et al., 2012).

Vários estudos demonstram que o desgaste do dente aumenta quando o tecido é exposto a um agente erosivo e a escovação ocorre imediatamente após esta exposição (Addy, Shellis, 2006; Lussi et al., 2004). Entretanto, existe controvérsia na literatura quanto ao momento ideal para realizar a escovação, quando ocorre a desmineralização do tecido dentário, analisando o potencial remineralizante da saliva sobre os tecidos dentais duros.

Amaechi e Highan (2001) observaram que a resistência ao desgaste abrasivo do esmalte erodido aumentava conforme o tempo de exposição para remineralização na saliva, tanto a natural como a artificial, também aumentava. Em outros dois estudos (Jaeggi, Lussi 1999; Attin et al., 2001;) foram observados que a exposição a saliva durante 1 h, aumentou seu efeito protetor sobre o tecido, sendo sugerido um tempo de espera de 30 min a 1 h para escovar os dentes após a exposição a agentes erosivos. Também Rios et al. (2006), avaliando o desgaste do tecido submetido a escovação imediatamente e após 1 h da exposição ao refrigerante Coca-Cola (Coca-Cola®; Companhia Fluminense de refrigerantes, Porto Real, Rio de Janeiro), recomendaram que seja aguardado este intervalo. No entanto, Ganss et al. (2007) não observaram um efeito protetor significativo da saliva quando a abrasão foi realizada após 2 h da exposição ao ácido cítrico (pH 2,3; em temperatura ambiente). Ainda Lussi et al. (2014), tiveram como finalidade determinar se a armazenagem durante até 4 h em saliva humana resultaria em diminuição no desgaste do dente e aumento da microdureza da superfície de amostras de esmalte após um ataque erosivo com a subsequente

abrasão, não encontrando diferenças significativas entre os tempos de 30 min, 2 h e 4 h.

Em nosso estudo, embora o peróxido de hidrogênio não represente um agente com potencial de agressividade semelhante aos agentes erosivos constituídos por bebidas ácidas (Ren et al., 2009), foi observado que, de uma forma geral, o intervalo de 1 h na saliva artificial, conferiu maior resistência ao desgaste do esmalte quando submetido à ação abrasiva da escovação.

Adicionalmente, quando fizemos a correlação dos três fatores em estudo (agente clareador x grau de abrasividade x tempo), pudemos constatar que o esmalte submetido ao gel clareador PH 7,5%, com alto abrasivo e escovado imediatamente após a exposição ao gel foi o que apresentou o maior desgaste no esmalte dentário.

Quando foi adicionado ao gel clareador o cálcio (PH+Ca) nas mesmas condições para os outros dois fatores, houve um menor desgaste da superfície, o que sugere que a adição do cálcio no gel para este estudo conferiu certa resistência à perda do tecido, conforme discutido anteriormente, assim como a não exposição dos espécimes ao gel clareador resultou em um menor desgaste que nas situações anteriores.

Para a exposição ao PH associado ao alto abrasivo após o intervalo de 1h na saliva, a perda de tecido foi semelhante à utilização do baixo abrasivo escovado imediatamente após a remoção do gel clareador, demonstrando a importância do potencial remineralizante da saliva.

Na condição onde o PH com baixo abrasivo e intervalo de 1h foi utilizado, o desgaste foi semelhante ao PH + Ca com baixo abrasivo escovado imediatamente, que teve também seus valores de perda de tecido próximos aos espécimes não clareados e escovados com baixo abrasivo imediatamente e os que foram clareados com PH + Ca e foram submetidos a escovação com alto abrasivo após 1 h e com o grupo sem

clareamento com alto abrasivo com o intervalo de 1 h de imersão na saliva.

Já os grupos sem clareamento e clareado com gel PH + Ca, escovados com baixo abrasivo, após o intervalo de 1 h na saliva artificial apresentaram os menores valores de desgaste do esmalte dentário.

Desta forma, de acordo com nosso estudo, a exposição ao gel clareador torna o esmalte mais susceptível ao desgaste abrasivo, todavia a adição do cálcio exerceu um efeito protetor ao tecido. A utilização de um abrasivo com maior valor de REA promoveu um maior desgaste, quando associado ao gel clareador e a escovação imediata. E o intervalo de 1 h na saliva pode conferir uma maior resistência ao desgaste abrasivo quando o tecido é submetido ao clareamento.

No entanto, deve-se ressaltar que este é um estudo *in vitro*, que não considera a presença da saliva humana e consequentemente da película adquirida, além de necessitar do polimento inicial das amostras para a realização da metodologia, alterando o substrato (Young, Tenuta, 2011). Desta forma, a extrapolação dos resultados para a realidade clínica deve ser criteriosamente realizada.

7 CONCLUSÃO

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

- a) O clareamento aumentou a susceptibilidade do esmalte à abrasão, sendo que a adição de cálcio ao gel clareador diminuiu a susceptibilidade do esmalte à abrasão quando comparado ao gel de peróxido de hidrogênio sem a adição do mesmo. Quando comparado ao controle não clareado, a adição de cálcio ao gel clareador resultou em desgaste semelhante, com exceção da condição alto abrasivo/imediato, cujo desgaste foi maior para o grupo HP+Ca;
- b) O uso de suspensões com alto grau de abrasividade aumentou o desgaste do esmalte;
- c) Os espécimes escovados após uma hora da remoção do agente clareador exibiram um menor desgaste abrasivo.

8 REFERÊNCIAS*

Addy M, Hunter ML. Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *Int Dent J*. 2003;53 (Suppl 3):177-86.

Addy M, Shellis RP. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci*. 2006; 20:17-31.

Alshara S, Lippert F, Eckert GJ, Hara AT. Effectiveness and mode of action of whitening dentifrices on enamel extrinsic stains. *Clin Oral Invest*. 2014;18 (2):563-69.

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

Attin T, Knofel S, Buchala W, Tutuncu R. In situ evaluation of diferente remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res*. 2001;35(3):216-22.

Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A. The potential of decíduos and permanente bovine enamel as substitute for decíduos and permanente human enamel: Erosion-abrasion experiments. *J Dent*. 2007;35(10):773-7.

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

*Baseado em:

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

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

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

Basting RT, Rodrigues Júnior AL, Serra MC. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Oper Dent.* 2001;26(6):531-9.

Bagheri R, Fani M, Barfi Ghasrodashti AR, Nouri Yadkouri N, Mousavi SM. Effect of a home bleaching agent on the fracture toughness of resin composites, using short rod desing. *J Dent.* 2014;15(2):74-80.

Berridge MJ, Bootman MD, Lipp P. Calcium- A life and death signal. *Nature.* 1998;395(6703):645-8.

Borges AB, Samezima LY, Fonseca LP, Yui KC, Borges AL, Torres CR. Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Oper Dent.* 2009;34(5): 593-7.

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

Borges AB, Torres CR, de Souza PA, Caneppele TM, Santos LF, Magalhães AC. Bleaching gels containing calcium and fluoride: effect on enamel erosion susceptibility. *Int J Dent.* 2012;347848.

Borges AB, Guimarães AC, Besciani E, Ramos CJ, Borges AL, Torres CRG. Effect of incorporation of remineralizing agents into bleaching gels on the microhardness of bovine enamel in situ. *J Contemp Dent Pract.* 2014;15(2):195-201.

Borges A, Zanatta R, Barros A, Silva L, Pucci C, Torres C. Effect of hydrogen peroxide concentration on enamel color and microhardness. *Oper Dent.* 2015;40(1):96-101.

Cakir FY, Korkmaz Y, Firat E, Oztas SS, Gurgan S. Chemical analysis of enamel and dentin following the application of three different at-home bleaching systems. *Oper Dent.* 2011;36(5): 529-36.

Caterina JJ, Skobe Z, Shi J, Ding Y, Simmer JP, Birkedal-Hansen H, et al. Enamelysin (matrix metalloproteinase 20) - deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J Biol Chem*. 2002;277(51):49598-49604.

Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Soares LE, Martin AA, Berger SB, Giannini M. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomed Laser Surg*. 2011;29(5):319-29.

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.

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

Davidson CL, Boom G, Arends J. Calcium distribution in human and bovine surface enamel. *Caries Res*. 1973;7(4):349-59.

Davis WB, Winter PJ. The effect of abrasion on enamel and dentine after exposure to dietary acid. *Br Dent J*. 1980;148(11-12):253-6.

Dawson PL, Walsh JE, Morrison T. Dental stain prevention by abrasive toothpastes: A new in vitro test and its correlation with clinical observation. *J Cosmet Sci*. 1998;49:275-83.

De La Peña AV, Rodriguez AC, Corral RA, López MR, Guitián FR. A study of in vivo degradation of two vital home bleaching gels. *Dent Mater J*. 2013;32(4):654-8.

De Menezes M, Turssi CP, Hara AT, Messias DC, Serra MC. Abrasion of eroded root dentine brushed with different toothpastes. *Clin Oral Invest*. 2004;8(3):151-5.

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

Eisenburger M, Shellis P, Addy M. Comparative study of wear of enamel with alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. *Caries Res*. 2003;37(6):450-5.

Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching: an in vitro study. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(5):546-51.

Fava M, Watanabe I, Moraes FF, Costa LRRS. Prismless enamel in human non erupted deciduous molar teeth: a scanning electron microscopic study. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1997;11:239-43.

Fava M, Myaki SI, Ramos CJ, Watanabe I. Scanning electron microscopy observations of the prismless layer in fissures of erupted primary molars. *Pós Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos*. 1999;2:1-7.

Faraoni-Romano JJ, Turssi CP, Serra MC. Effect of a 10% carbamide peroxide on wear resistance of enamel and dentine: in situ study. *J Dent* 2009;37(4):273-8.

Feagin F, Koulourides T, Pigman W. The characterization of enamel surface demineralized, remineralization, and associated hardness changes in human and bovine material. *Arch Oral Biol*. 1969;14(12):1407-17.

Fejerskov O, Josephsen K, Nyvad B. Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel. *Caries Res*. 1984;18(4):302-14.

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

Fincham AG. Changing amino acid profiles of developing dental enamel in individual human teeth and comparison of the protein matrix of developing human and bovine enamel. *Arch Oral Biol*. 1980;25(10):669-74.

Fincham AG, Belcourt AB, Lyaruu DM, Termine JD. Comparative protein biochemistry of developing dental enamel matrix from five mammalian species. *Calcif Tissue Int*. 1982;34(2):182-9.

Fukumoto S, Kiba T, Hall B, Iehara N, Nakamura T, Longenecker G, et al. Ameloblastin is a cell adhesion molecule required for maintaining the differentiation state of ameloblasts. *J Cell Biol*. 2004;167(5):973-83.

Ganss C, Schlueter N, Friedrich D, Klimek J. Efficacy of waiting periods and topical fluoride treatment on toothbrush abrasion of eroded enamel in situ. *Caries Res*. 2007;41(2):146-51.

Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. Conventional and anti-erosion fluoride toothpaste: effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res*. 2011;45(6):581-9.

Ganss C. Is erosive tooth wear an oral disease? *Monogr Oral Sci*. 2014; 25:16-21.

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

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.

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent.* 1992;5:10-17.

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

Hara AT, Gonzáles-Cabezas Creeth J, Parmar M, Eckert GJ, Zero DT. Interplay between fluoride and abrasivity of dentifrices on dental erosion-abrasion. *J Dent.* 2009;37(10):781-5.

Hefferren JJ. A laboratory method for assessment of dentifrice abrasivity. *J Dent Res.* 1976;55(4): 563-73.

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.

Hilgenberg SP, Pinto SC, Farago PV, Santos FA, Wambier DS. Physical-chemical characteristics of whitening toothpaste and evaluation of its effects on enamel roughness. *Braz Oral Res.* 2011;25(4):288-94.

Hooper S, West NX, Pickles M, Joiner A, Newcombe RG, Addy M. Investigation of erosion and abrasion of enamel and dentine: a model in situ using toothpastes of different abrasivity. *J Clin Periodont.* 2003;30(9): 802-8.

Hu JC, Hu Y, Smith CE, McKee MD, Wright JT, Yamakoshi, et al. Enamel defects and ameloblast-specific expression in Enam knock-out/lacZ knock-in mice. *J Biol Chem.* 2008;283:10858-71.

Hughes N, Mason S, Creeth J, Hara AT, Parmar M, Gonzáles-Cabezas. The effect of anti-sensitivity dentifrices on brushing of eroded dentin in vitro. *J Clin Dent.* 2008;19(4):143-6.

Hunter MI, Addy M, Pickles MJ, Joiner A. The role of toothpaste and toothbrushes in the aetiology of tooth wear. *Int Dent J.* 2002;52:399-405.

Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sc.* 1996;104:151-5.

ISO11609, ISSO 1995. International Standard: Dentistry- Toothpaste Requeriments, test methods and marking, ISO, Switzerland.

Jaeggi T, Lussi A. Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. *Caries Res.*1999;33(6):455-61.

Joiner A, Pickles MJ, Matheson JR, Weader E, Noblet L, Huntington E. Whitening toothpastes: effects on tooth stain and enamel. *Int Dent J.* 2002;52:424-30.

Joiner A, Thakker G, Cooper Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro. *J Dent.* 2004;32(Suppl 1):27-34.

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

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

LesGeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monogr Oral Sci.* 1991;15:1-201.

Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent.* 2004;92(4):337-42.

Lima JP, Melo MA, Passos VF, Braga CL, Rodrigues LK, Santiago SL. Dentin erosion by whitening mouthwash associated to toothbrushing abrasion: A focus variation 3D scanning microscopy study. *Microsc Res Tech.* 2013;76(9):904-8.

Litonjua LA, Andreana S, Bush PJ, Cohen RE. Tooth wear: attrition, erosion and abrasion. *Quintessence Int.* 2003;34(6):435-46.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38(Suppl1):34-44.

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

Lussi A, Lussi J, Carvalho TS, Cvikl B. Toothbrushing after an erosive attack: will waiting avoid tooth wear? *Eur J Oral Sci.* 2014;122(5):353-9.

Macdonald E, North A, Maggio B, Sufi F, Mason S, Moore C, Addy M, West NX. Clinical study investigating abrasive effects of three toothpastes and water in an in situ model. *J Dent.* 2010;38(6):509-16.

Magalhães AC, Wiegand A, Buzalaf MAR. Use of dentifrices to prevent erosive tooth wear: harmful or helpful?. *Braz Oral Res.* 2014;28:1-6.

Marques DN, da Mata AD, Silveira JM, Marques JR, Amaral JP, Guilherme NF. Hydrogen peroxide release kinetics into saliva from different whitening products: a double-blind, randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2012;16(1):155-63.

Martins RS, Macêdo JB, Muniz FWMG, Carvalho RS, Moreira MMSM. Composition, active ingredients and clinical indications of dentifrices: a literature review between 1989 and 2011. *J Health Sci Inst.* 2012;30(3):287-91.

Matis BA, Gaião U, Blackman D, Schultz FA, Eckert GJ. In vivo degradation of bleaching gel used in whitening teeth. *J Am Dent Assoc.* 1999;130(2):227-35.

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

Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res.* 1992;71:913-9.

Melo CFM, Manfroí FB, Spohr. Microhardness and roughness of enamel bleached with 10% carbamide peroxide and brushed with different toothpastes: an in situ study. *J Int Oral Health.* 2014;6(4):18-24.

Nathanson D, Parra C. Bleaching vital teeth: a review and clinical study. *Compend Educ Dent.* 1987;8(7):490-8.

Navimipour EJ, Kimyai S, Nikazar S, Ghojzadeh M. In vitro evaluation of the effect of delaying toothbrushing with toothpaste on enamel microhardness subsequent to bleaching the teeth with 15% carbamide peroxide. *Oper Dent.* 2012;37(1):87-92.

Navimipour EJ, Mohammadi N, Mostafazadeh S, Ghojzadeh M, Oskoei PA. Effect of delaying toothbrushing during bleaching on enamel surface roughness: an in vitro study. *Oper Dent.* 2013;38(2):218-25.

Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. *Braz Dent J*. 2005;16(2):103-6.

Papathanasiou A1, Kastali S, Perry RD, Kugel G. Clinical evaluation of a 35% hydrogen peroxide in-office whitening system. *Compend Contin Educ Dent*. 2002;23(4):335-8.

Philpotts CJ, Weader E., Joiner A. The measurement in vitro of enamel and dentine wear by toothpastes of different abrasivity. *Int Dent J*. 2005; 55(3 Suppl 1):183-7.

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

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

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

Rios D, Honorio HM, Magalhães AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, Buzalaf MA. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. *Caries Res*. 2006;40(3):218-23.

Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Silva SM, Delbem AC, Machado MA Buzalaf MA. Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel. *Braz Oral Res*. 2008;22(2):132-8.

Robinson C, Lowe NR, Weatherell JA. Amino acid composition, distribution and origin of "tuft" protein in human and bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*. 1975;20(1):29-42.

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):23-6.

Schmitz JE, Teepe JD, Hu Y, Smith CE, Fajardo RJ, Chun YHP. Estimating mineral changes in enamel formation by ashing/BSE and MicroCT. *J Dent Res*. 2014;93(3):256-62.

Shellis PR, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:32-45.

Skene L. Ownership of human tissue and the law. *Nat Rev Genet.* 2002; 3(2):145-8.

Simmer JP, Hu Y, Lertlam R, Yamakoshi Y, Hu JC. Hypomaturational enamel defects in K1k4/LacZ knockin mice. *J Biol Chem.* 2009; 284(28):19110-21.

Smith BGN, Knight JK. An index for measuring the wear of teeth. *British Dent J.* 1984;156(12):435-8.

Smith CE, Richardson AS, Hu Y, Bartlett JD, Hu JC, Simmer JP. Effect of kallikrein 4 loss on enamel mineralization: comparison with mice lacking matrix metalloproteinase 20. *J Biol Chem.* 2011;286(20):18149-60.

Srot V, Bussmann B, Salzberger U, Koch CT, van Aken PA. Linking microstructure and nanochemistry in human dental tissues. *Microsc Microanal.* 2012;18(3):509-23.

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

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

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

ten Cate JM, Exterkate RA, Buijjs MJ. The relative efficacy of fluoride toothpaste assessed with pH cycling. *Caries Res.* 2006;40(2):136:41.

Turssi CP, Faraoni JJ, Rodrigues Jr AL, Serra MC. An in situ investigation into the abrasion of eroded dental hard tissues by a whitening dentifrice. *Caries Res.* 2004;38(5):473-7.

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.

Wegehaupt FJ, Attin T. The role of fluoride and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate in the prevention of

erosive/abrasive wear in an in vitro model using hydrochloric acid. *Caries Res.* 2010;44(4):358-63.

Wegehaupt F, Günthart N, Sener B, Attin T. Prevention of erosive/abrasive enamel wear due to orange juice modified with dietary supplements. *Oral Diseases.* 2011;17:508-14.

West NX, Hooper SM, O'Sullivan D, Hughes N, North M, Macdonald EL, Davies M, Claydon NC. In situ randomised trial investigating abrasive effects of two desensitising toothpastes on dentine with acidic challenge prior to brushing. *J Dent.* 2012;40(1):77-85.

West NX, Joiner A. Enamel mineral loss. *J Dent.* 2014;42Suppl1:S2-11.

Wiegand A, Begic M, Attin T. In vitro evaluation of abrasion of eroded enamel by different manual, power and sonic toothbrushes. *Caries Res.* 2006;40(1):60-5.

Wiegand A, Kowing L, Attin. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. *Arch Oral Biol.* 2007;52(11):1043-7.

Wiegand A, Kuhn M, Sener B, Roos M, Attin T. Abrasion of eroded dentin caused by toothpaste slurries of different abrasivity and toothbrushes of different filament diameter. *J Dent.* 2009;37(6):480-4.

Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhães AC, Roos M, Ziebolz TI, Attin . Impact of toothpaste slurry abrasivity and toothbrush filament stiffness on abrasion of eroded enamel- an in vitro study. *Acta Odont Scand.* 2008;66(4):231-5.

Worschech, C.C., et al., Brushing effect of abrasive dentifrices during at-home bleaching with 10% carbamide peroxide on enamel surface roughness. *J Contemp Dent Pract.* 2006;7(1):25-34

Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res.* 1995;9(3):214-30.

Yassen G, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011;53(3):273-82.

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