



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



**“Avaliação da microdureza knoop e concentração de
cálcio e fósforo do esmalte submetido ao clareamento
com agentes com cálcio”**

Rafaela Delorenzo Barreto Prado

Piracicaba

2011

Rafaela Delorenzo Barreto Prado

“Avaliação da microdureza knoop e concentração de cálcio e fósforo do esmalte submetido ao clareamento com agentes com cálcio”

Monografia apresentada ao Curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, para a obtenção do Diploma de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Carlos Eduardo dos Santos Bertoldo

Piracicaba

2011

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

P882a Prado, Rafaela Delorenzo Barreto, 1989-
Avaliação da microdureza Knoop e concentração de
cálcio e fósforo do esmalte submetido ao clareamento
com agentes com cálcio / Rafaela Delorenzo Barreto
Prado. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Carlos Eduardo dos Santos Bertoldo.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) –
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Odontologia de Piracicaba.

1. Dentística. 2. Saliva artificial. I. Bertoldo, Carlos
Eduardo dos Santos, 1986- II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Odontologia de
Piracicaba. III. Título.

Dedico este trabalho aos meus pais e
irmão, por sempre representarem meus
maiores exemplos.

Agradecimentos

À Deus pela força e luz durante todos estes anos.

À minha família e namorado pelo grande apoio e amor que me guiou em todas as minhas jornadas.

Ao Doutorando Carlos Eduardo dos Santos Bertoldo pela orientação e enorme ajuda na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Roberto Lovadino pelo auxílio e por tornar esse projeto possível.

À todos os professores e funcionários que foram de fundamental importância para a concretização desta etapa.

Às minhas amigas pela companhia, apoio e pelos muitos momentos alegres e inesquecíveis.

Sumário

Resumo.....	pág. 7
Abstract.....	pág. 8
Introdução e Justificativa.....	pág. 9
Objetivo.....	pág. 11
Metodologia.....	pág. 12
Resultados.....	pág. 19
Discussão.....	pág. 21
Conclusão.....	pág. 24
Referências Bibliográficas.....	pág. 25

Resumo

Este estudo “in vitro” avaliou a microdureza Knoop e concentração de Cálcio e fósforo (EDS) do esmalte dental após utilização de diferentes clareadores. Foram utilizados 45 blocos de esmalte bovino, divididos em 3 grupos (n=3): G1 - Controle; G2 - peróxido de hidrogênio (PH) a 35% (Whiteness HP Maxx – FGM); e G3 - PH a 35% com cálcio (Whiteness HP Blue – FGM). Estes grupos foram divididos em 3 subgrupos cada: A - leituras de microdureza inicial e final e EDS (imediatamente após o clareamento, para os grupos clareados), B - leituras de microdureza inicial e, após imersão em saliva artificial por 15 dias, leituras de microdureza final e EDS; e C - leituras de microdureza inicial e, após imersão em saliva artificial por 30 dias, leituras de microdureza final e EDS. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA “dois fatores” e teste de Tukey ($\alpha=5\%$). Para os valores de dureza, não se observou diferença estatística entre os grupos na leitura inicial. Na leitura final, observou-se que os grupos G2A e G3A apresentaram menores valores em relação a G1A, sendo que G2A apresentou as menores médias. Os grupos G2B e G3B não apresentaram diferença significativa, e os grupos G1C, G2C e G3C, não diferiram estatisticamente. Em relação às taxas de Fósforo, não foram observadas diferenças entre os grupos. As taxas de Cálcio foram menores somente para o grupo G2A. Pode-se concluir que o clareamento com gel clareador com cálcio tem potencial para reduzir com menor intensidade a microdureza do esmalte em relação aos sem cálcio, porém a imersão em saliva artificial pelo período de 30 dias foi suficiente para tornar os valores comparáveis aos do esmalte não clareado. Conclui-se ainda que os agentes clareadores com cálcio afetaram de forma significativa a concentração de Cálcio do esmalte em comparação ao grupo tratado com agente comum.

Palavras-chave: Microdureza, Esmalte, Clareamento

Abstract

This study "in vitro" assessed the microhardness Knoop and the concentration of calcium and phosphorus (EDS) of the enamel after the use of different bleaching agents. Were used 45 blocks of bovine enamel, divided into 3 groups (n = 3): G1 - control; G2 - hydrogen peroxide (PH) at 35% (Whiteness HP Maxx – FGM); and G3 - PH at 35% with calcium (Whiteness HP Blue – FGM). These groups were divided into 3 sub-groups each: A – initial and final microhardness readings and EDS (immediately after bleaching, for the bleached groups), B - initial microhardness readings and after artificial saliva immersion for 15 days, final microhardness readings and EDS; and C – initial microhardness readings and after artificial saliva immersion for 30 days, final microhardness readings and EDS. Data were statistically analyzed by ANOVA "two factors" and Tukey test ($\alpha = 5\%$). For the values of hardness, no statistical difference was observed between the groups in the initial reading. In the final reading, it was noted that the groups G2A and G3A presented smaller values than G1A and G2A presented the smaller averages. G2B and G3B groups did not show significant difference and the groups G1C, G2C and G3C did not differed statistically. Relative to rates of phosphorus, no differences were found between the groups. Calcium rates were lower only in the G2A group. It can be concluded that the whitening with bleaching gel with calcium has the potential to reduce to a lesser extent the enamel microhardness in relation to no calcium added, but artificial saliva immersion for a period of 30 days was enough to make the figures comparable to enamel not bleached. It is also concluded that bleaching agents with calcium affected significantly the calcium concentration of enamel in comparison to the group treated with common agent.

Keywords: Microhardness, Enamel, Bleaching

Introdução e Justificativa

Alterações de cores dos elementos dentais são consideradas como um dos principais problemas estéticos, freqüentemente relatados por pacientes. E, embora existam tratamentos restauradores como facetas ou coroas de porcelana que poderiam ser usados para correção desse defeito, o tratamento clareador vem sendo utilizado com resultados satisfatórios quando bem indicado, por se tratar de uma técnica não-invasiva.

Os agentes clareadores a serem utilizados apresentam peróxido de carbamida, que, quando em contato com água ou fluidos salivares, por exemplo, se decompõe em peróxido de hidrogênio e uréia (Haywood e Heymann, 1989); Segundo Goldstein e Garber, 1996, o peróxido de hidrogênio, o verdadeiro agente ativo dos clareadores, libera água e radicais livres de oxigênio e, simultaneamente, hidrogênio e peridroxil (radical livre HO₂ – Eletrofílico e instável) em proporções dependentes do pH do meio de degradação. Quando o pH do meio é básico, maior quantidade de peridroxil e hidrogênio é formada, levando à oxidação das macromoléculas carbonatadas e coradas, tornando-as menores e descoradas.

O clareamento dental caseiro vem sendo muito utilizado nos dias atuais para o tratamento estético de dentes com alteração de cor, pois é uma alternativa conservadora, eficiente, de baixo custo e de fácil execução. Inicialmente essa técnica foi proposta por Haywood e Heymann, em 1989. Foi enfatizado que a técnica oferece segurança, por não envolver aplicação de calor, ácidos ou desgastes, bem como, destacando-se por envolver um tempo mínimo de cadeira. Na técnica se emprega peróxido de carbamida 10% em uma moldeira individual por 4 horas diárias, pelo período de 2 a 6 semanas, portanto, um tempo considerado relativamente grande pelos cirurgiões dentistas e também pelos pacientes.

Com o intuito de diminuir o tempo de tratamento para chegar aos resultados desejados, foram introduzidos no mercado agentes clareadores de alta concentração. Os agentes clareadores para uso profissional contêm altas concentrações do peróxido de carbamida (35-37%) e do peróxido de hidrogênio (30-40%), enquanto a técnica caseira contém peróxido de carbamida em concentrações que variam de 10 a 22% ou

peróxido de hidrogênio até 10% (Suliman, 2006), que podem tornar também este tipo de tratamento mais rápido.

Alguns problemas relacionados à estrutura dentária provenientes da técnica são apresentados por alguns autores. Porém, há discordância em relação a esses efeitos. Estudos revelam aumento da porosidade do esmalte clareado, erosão e até mesmo desmineralização superficial (Shannon *et al.*, 1993; Flaitz & Hicks, 1996; Perdigão *et al.*, 1998; Hegedüs *et al.*, 1999; Akal *et al.*, 2001, Cavalli *et al.*, 2004a). Ainda, as evidências em relação à composição química, propriedades físicas e mecânicas do esmalte humano clareado também mostram resultados contraditórios (Murchinson *et al.*, 1992; Rotstein *et al.*, 1996; Attin *et al.*, 1997; Potocnik *et al.*, 2000; Akal *et al.*, 2001; Cimilli & Pameijer, 2001; Cavalli *et al.*, 2004).

Estudos demonstraram que o tratamento clareador com peróxido de carbamida pode resultar em diminuição na concentração de cálcio, fosfato e flúor presentes no esmalte (Perdigão *et al.*, 1998; Potocnik *et al.*, 2000; Burgmaier *et al.*, 2002), aumentando a susceptibilidade do substrato à desmineralização (Flaitz & Hicks, 1996; Al-Qunaian, 2005). Tais constatações tornam-se pertinentes e preocupantes, uma vez que devido à notoriedade das técnicas clareadoras, observa-se em alguns casos a utilização desses agentes em pacientes que apresentam lesões iniciais de cárie, embora pouca informação exista a respeito dos efeitos dos agentes clareadores em superfícies de esmalte previamente desmineralizadas (Basting *et al.*, 2001).

Em 1993, Shannon *et al.* comprovaram o aumento da porosidade causada pelos agentes clareadores com peróxido de carbamida em altas e baixas concentrações, entretanto, mínima alteração na microdureza do esmalte foi relatada. Todavia, a diminuição da dureza do esmalte tratado com peróxido a 10% e 16% foi demonstrada, e análises ultra-morfológicas apontam perda de cálcio e fosfato da superfície clareada (Pinheiro Jr. *et al.*, 1996; Lopes *et al.*, 2000; McCracken & Haywood, 1996; Ruse *et al.*, 1990).

Com o objetivo de minimizar estes efeitos, vem sendo introduzidos no mercado, agentes clareadores com aditivos como flúor ou cálcio, que por estarem em solução supersaturada de íons, impediriam a dissolução do esmalte em meio ao agente clareador (Attin *et al.*, 1997; Giannini *et al.*, 2006).

Sabe-se que o principal produto responsável pela ação anticariogênica de agentes tópicos de flúor é o fluoreto de cálcio (“CaF₂”) (Ogaard, 2001) e que a sua formação depende da disponibilidade de cálcio e fosfato presentes no meio bucal. Logo, o flúor não é o único elemento químico favorável para promover a remineralização, sendo este efeito dependente da disponibilidade de cálcio e fosfato no local da lesão (Kardos *et al.*, 1999) ou na saliva (Schemehorn, 1999a).

Surgiram, portanto, no mercado, como alternativa a essa desmineralização do esmalte, dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato, com baixa concentração de flúor, que segundo Bergamaschi *et al.* (2003), apresentaram efetividade na redução da perda de minerais em esmalte bovino *in vitro*.

Como existem pesquisas que indicam que ocorrem alterações na estrutura do esmalte clareado, alterações estas que podem não ser significativas, porém consideráveis (Park *et al.*, 2004), o presente estudo teve como objetivo avaliar a microdureza Knoop do esmalte e a concentração de cálcio e fósforo após a realização de clareamento com produto a base de peróxido de hidrogênio a 35% contendo cálcio, e também após imersão em saliva artificial, para que dessa forma, possa se qualificar a real necessidade de utilização desse tipo de agente nos procedimentos.

Objetivo

O objetivo deste trabalho é avaliar possíveis alterações do esmalte dental decorrentes de perda ou ganho minerais quando submetidos ao clareamento dental com agentes clareadores com cálcio e manutenção em saliva artificial, empregando a análise de Raios-x por Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS) e teste de microdureza Knoop.

Materiais e métodos

Delineamento Experimental

Unidades experimentais:

45 blocos de esmalte de dentes incisivos bovinos

Fator em estudo:

Agente clareador em 2 níveis. Whiteness HP BLUE 35% e Whiteness HP Maxx 35% (FGM)

Variável de resposta:

Dureza Knoop pelo Teste de Microdureza.

Composição Química do Esmalte através da Microanálise de Raios-x por Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS).

Forma de Designar o tratamento às unidades experimentais:

Por processo aleatório, através de sorteio.

Obtenção dos corpos de prova

Para a realização dessa pesquisa foram utilizados 45 dentes incisivos bovinos. Os elementos foram armazenados em solução aquosa de timol a 0,1% (Dinâmica, Piracicaba, São Paulo, Brasil) tamponado durante um mês e, manualmente, os debris foram removidos com lâminas de bisturi e polidos com taças de borracha e pasta de pedra pomes (SS White LTDA; Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água. Os dentes foram examinados sob lupa com aumento de 4X, quanto à presença de linhas de fratura e trincas, que eventualmente poderiam ter influência nos testes a serem realizados.

Após remoção manual dos debris e polimento, os dentes foram armazenados em água destilada até o momento de sua utilização.

Após a seleção, obteve-se 45 fragmentos de dentes, com área de superfície de 25 mm^2 (fragmentos de $5 \times 5 \text{ mm}$ aproximadamente), extraídos da superfície vestibular da coroa dos incisivos bovinos (Fig.1). Para tanto, foi realizada a separação da coroa da porção radicular, com um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, Ind. Com. Ltda, Barueri, SP, Brasil) sob constante irrigação de jato de água em peça-de-mão, em baixa rotação. Em seguida realizou-se outros cortes na porção coronária, nos sentidos méso-distal e inciso-cervical em uma cortadeira metalográfica (Isomet 1000, Buehler, Illinois, EUA) (Fig. 2A) com disco diamantado de alta concentração (Extec 4" x 012 x 1/2, Buehler, Illinois, EUA) (Fig. 2B) para a obtenção dos fragmentos.



Figura 1: Obtenção do bloco de esmalte.



2A

2B

Figura 2: A- Cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Illinois, EUA); B - Disco diamantado de alta concentração ($4'' \times 012 \times \frac{1}{2}$, Buehler, Illinois, EUA).

A superfície de esmalte foi planificada com lixas de carbeto de silício (SiC), de granulação #600 e #1200 (Fig. 3) sob irrigação constante, utilizando-se uma Politriz giratória (Maxigrind, Solotest, São Paulo, SP, Brasil) e polida com discos de feltro associados a pasta diamantada (Arotec, Cotia, SP, Brasil), em politriz giratória.



Figura 3: Planificação da superfície de esmalte com lixas de carbeto de silício de granulação crescente (#600 e #1200).

Divisão dos Grupos Experimentais e Tratamento Clareador

Após a confecção dos corpos de prova, estes foram divididos em 3 grupos (n=15 por grupo, de acordo com o tipo de clareador empregado), e em seguida em 3 subgrupos (n=5 de acordo com o tempo de imersão em saliva artificial). As amostras foram identificadas e fixadas em discos de acrílico com cera pegajosa, de modo que a superfície do esmalte (superfície teste) permanecesse paralela à base do acrílico, viabilizando a realização do ensaio de microdureza superficial.

As divisões dos grupos e subgrupos estão representados no quadro 1.

Quadro 1: Divisão dos grupos de acordo com o agente clareador e tempo de imersão em saliva.

GRUPO	CLAREAMENTO	SALIVA 15 DIAS	SALIVA 30 DIAS
G1A	NÃO	NÃO	NÃO
G1B	NÃO	SIM	NÃO
G1C	NÃO	NÃO	SIM
G2A	MAXX**	NÃO	NÃO
G2B	MAXX**	SIM	NÃO
G2C	MAXX**	NÃO	SIM
G3A	BLUE*	NÃO	NÃO
G3B	BLUE*	SIM	NÃO
G3C	BLUE*	NÃO	SIM

* Clareamento com Gel Whiteness HP BLUE (FGM) 35%.

** Clareamento com Gel Whiteness HP MAXX (FGM) 35%.

Divisão dos Grupos:

G1- Controle - nenhum procedimento – estocagem em água destilada em estufa bacteriológica a 37°C.



Figura 4: Estocagem do corpo de prova em água destilada.

G2 - Aplicação de peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP MAXX/FGM Produtos odontológicos Ltda.; Joinville, SC, Brasil): 3 aplicações com 1mm de espessura por 15 minutos, segundo instruções do fabricante, intercalados por lavagem com água destilada deionizada, lavagem final e armazenagem em solução de água destilada deionizada a 37°C (Fig. 5).



Figura 5: Aplicação de peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP MAXX/FGM Produtos odontológicos Ltda.; Joinville, SC, Brasil)

G3 - Aplicação de peróxido de hidrogênio a 35% com cálcio (Whiteness HP Blue/FGM Produtos odontológicos Ltda.; Joinville, SC, Brasil) em camada de 1mm de espessura por 40 minutos, segundo instruções do fabricante, lavagem, armazenagem em solução de água destilada deionizada a 37°C (Fig. 6).

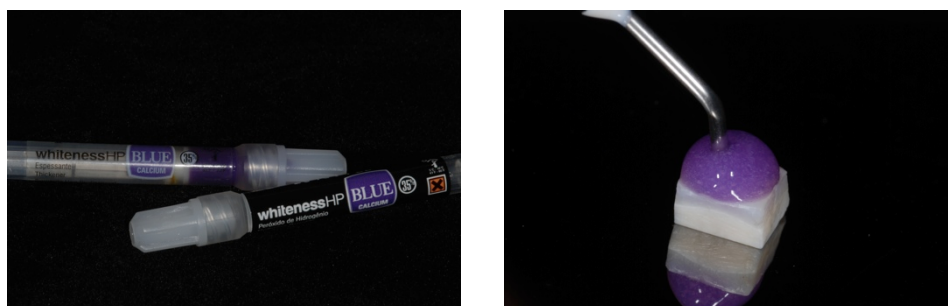


Figura 6: Aplicação do peróxido de hidrogênio a 35% com cálcio (Whiteness HP Blue/FGM Produtos odontológicos Ltda.; Joinville, SC, Brasil).

Divisão dos Subgrupos

A- Leituras de microdureza Knoop e EDS após aplicação do tratamento.

B- Leituras de microdureza e EDS após aplicação do tratamento e imersão em saliva artificial por 15 dias.

C- Leituras de microdureza e EDS após aplicação do tratamento e imersão em saliva artificial por 30 dias.

Análise de Microdureza superficial Knoop

A microdureza da superfície foi obtida através da média aritmética de 5 impressões na região central do bloco, com uso de um microdurômetro (HMV-2000 Shimadzu, Tokyo, Japão) (Fig. 7A), com carga estática de 25 gramas por 5 segundos e com 100 µm de distância entre elas (Fig. 7B) (Paes Leme *et al.*, 2003; Rodrigues *et al.*, 2005).



7A

7B

Figura 7: A- Microdurômetro (HMV-2000 Shimadzu, Tokyo, Japão); B - Edentações na região central da superfície da amostra com distância de 100µm.

Análise quantitativa mineral do esmalte em EDS

As amostras foram preparadas para a leitura em microscópio eletrônico de varredura (JEOL.JSM 5600LV, Tokyo, Japão) (Fig. 8).



Figura 8: Microscópio eletrônico de varredura.

Após a desidratação lenta em recipiente com sílica gel durante três dias a 40°C, os corpos de prova foram recobertos com uma camada de carbono vaporizado de uma corda de carbono (Carbon Yarn Part. No. YRN001-0001, Denton Vacuum, Moorestown, NJ, USA), em metalizador (Denton Vacuum - Desc II, Moorestown, NJ, USA) (Fig. 9).



Figura 9: A - Corda de carbono; B - Metalizador; C – Amostras recobertas com carbono.

Após esse procedimento as amostras foram submetidas à análise por EDS no microscópio eletrônico de varredura associado ao Sistema Vantage Version 1.4 Ver. B. (Noran Instruments – Middleton, WI., USA).

Análise dos resultados

A análise exploratória dos dados indicou 2 “outliers” para fósforo e cálcio (G1C, corpo de prova 3). Esses valores foram retirados e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA) 2 “way” clareamento x controle e teste de Tukey. Para a variável dureza, após a análise exploratória, foi aplicada a metodologia de modelos mistos pelo procedimento PROC MIXED para medidas repetidas, após a seleção da estrutura de covariância adequada as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Foi utilizado o programa estatístico SAS e adotado o nível de significância de 5%.

Resultados

Microdureza Knoop

Os resultados de dureza estão apresentados na tabela 1.

Ambos clareadores diminuíram a microdureza do esmalte de maneira significativa. Após o clareamento, o clareador com cálcio apresentou maior dureza diferindo estatisticamente do clareador sem cálcio. A imersão em saliva artificial pelo período de 15 dias aumentou os valores de microdureza, não diferindo porém dos valores após 30 dias de imersão.

Tabela 1: Média (desvio padrão) da dureza (KHN).

Tempo	Saliva	Clareador		
		Não	Maxx	Blue
Inicial	Ausente	431,6 (29,2)Aa	433,6 (25,4)Aa	429,2(30,1)Aa
	15 dias	438,6 (33,3)Aa	431,4 (14,7)Aa	430,4(19,5)Aa
	30 dias	430,4 (20,0)Aa	432,0 (11,1)Aa	433,0(17,4)Aa
Final	Ausente	427,6 (22,8)Aa	379,2 (21,0)Cb	405,6(18,8)Bb
	15 dias	453,4 (38,8)Aa	434,4 (37,2)Aa	429,6(11,8)Aa
	30 dias	450,6 (43,7)Aa	445,8 (31,2)Aa	447,2(16,4)Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ($p \leq 0,05$). Não houve diferença significativa entre os tempos inicial e final ($p = 0,7682$).

EDS

Fósforo

Observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos clareados com cálcio e comum ($p = 0,2577$), mas houve entre os subgrupos ($p = 0,0058$). A interação entre os grupos experimentais e o grupo controle não foi significativa ($p = 0,3976$). Observa-se que a taxa de Fósforo apresentou-se mais baixa logo após o clareamento e somente após 30 dias de imersão em saliva artificial houve alteração desses valores, assim como apresentado na tabela 2.

Tabela 2: Quantidade de Fósforo \pm desvio padrão em função do tratamento.

Saliva	Clareador		
	Não	Maxx	Blue
Não	28.59 \pm 0.46 Aa	28.52 \pm 0.32 Ab	28.08 \pm 0.55 Ab
15	28.37 \pm 0.26 Aa	28.41 \pm 0.34 Ab	28.45 \pm 0.29 Ab
30	28.54 \pm 0.39 Aa	29.02 \pm 0.45 Aa	28.74 \pm 0.17 Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Cálcio

Observou-se que houve diferença significativa entre os grupos clareados com cálcio e comum ($p=0,0122$), mas não houve entre os subgrupos ($p=0,3289$). A interação entre os grupos experimentais e o grupo controle não foi significativa ($p=0,4922$). Pode-se observar que as taxas de Cálcio somente variaram para o grupo tratado com clareador comum logo após a realização do tratamento, porém as taxas voltaram aos níveis de normalidade após 15 dias de imersão em saliva artificial, assim como apresentado na tabela 3.

Tabela 3: Quantidade de Cálcio \pm desvio padrão em função do tratamento.

Saliva	Clareador					
	Não		Maxx		Blue	
Não	71,10	± 0.47 Aa	70,74	± 0.40 Ba	71,01	± 0.21 Aa
15	71,41	± 0.39 Aa	71,20	± 0.29 Aa	71,64	± 0.55 Aa
30	71,04	± 0.42 Aa	71,24	± 0.48 Aa	71,18	± 0.28 Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Discussão

No presente estudo constatou-se que ambos os agentes clareadores testados provocaram redução na microdureza e na quantidade de fósforo do esmalte dental no tempo logo após o clareamento. A taxa de cálcio, porém, revelou uma queda significativa apenas com o clareador comum, no tempo logo após o procedimento clareador. Estudos anteriores já haviam obtido resultados semelhantes com o uso de peróxido de hidrogênio em altas concentrações, comprovando que essas substâncias clareadoras promoveram alterações estruturais e morfológicas e diminuição da razão cálcio/fósforo desse tecido dental (Potocnik *et al.*, 2000; Rotstein *et al.*, 1996).

Testes de microdureza são sensíveis e capazes de revelar pequenas mudanças que ocorrem nos processos de desmineralização ou remineralização de um substrato (Lussi, 1993). Desse modo, a análise da microdureza do esmalte fornece indício de ganho ou perda mineral dos dentes (Shannon, 1993). No presente estudo, a redução dos valores obtida com o uso dos clareadores indica, então, que as alterações observadas no esmalte devem ser decorrentes de perda mineral sofrida no tratamento. De fato, outros autores já notificaram a redução da concentração de Cálcio e da relação Cálcio-Fosfato, principais constituintes inorgânicos dos tecidos dentais, no esmalte clareado (Lee *et al.*, 2006; Scannavino, 2008; Tezel *et al.*, 2007; Al-Salehi *et al.*, 2007; Potocnik *et al.*, 2000; Rotstein *et al.*, 1996).

O mecanismo exato pelo qual o peróxido de hidrogênio afeta os tecidos dentais não é completamente compreendido, mas seus efeitos deletérios, como a desmineralização identificada no presente estudo, podem estar relacionados à seu próprio mecanismo de ação. O peróxido é um forte agente oxidante que possui a capacidade de se difundir através do esmalte e da dentina em função de sua permeabilidade e baixo peso molecular, além de ter a habilidade de desnaturar proteínas, acontecendo assim um grande movimento iônico através dos tecidos dentários (Rotstein, 1991; Hanks *et al.*, 1993; Berger *et al.*, 2010). A ação do peróxido de hidrogênio se dá por processo de oxi-redução, em que as macromoléculas pigmentadas do esmalte são oxidadas, convertendo-se em moléculas menores e mais claras (Haywood, 1992; White *et al.*, 2004; Baratieri, 1993). Entretanto, a reação dos peróxidos é inespecífica, podendo agir também na matriz dental, afetando o esmalte e causando perda mineral (Akal *et al.*, 2001; Crews *et al.*, 1997; Flaitz & Hicks, 1996; Hegedus *et al.*, 1999; Lewinstein *et al.*, 1994).

O pH do agente clareador também tem sido relacionado às causas das alterações minerais da superfície do esmalte clareado. Rodrigues *et al.*, em 2001, ao testar clareadores de diferentes pH obteve resultados que sugeriram que essa propriedade pode influenciar na perda mineral. Géis ácidos promoveriam um meio favorável à desmineralização. A redução dos valores de microdureza observada no presente estudo não deve, no entanto, estar associada a essa causa, uma vez que os géis clareadores utilizados apresentam, segundo o fabricante, pH neutro.

Nesse contexto de análise e compreensão dos efeitos causados pelos agentes clareadores aos tecidos dentais, a adição de cálcio na composição dos géis tem sido apontada como alternativa para reduzir as conseqüências adversas. O propósito dessas fórmulas seria aumentar a saturação do gel com íons, reduzindo a perda mineral e aumentando a resistência do esmalte à desmineralização causada pelos peróxidos (Giannini *et al.*, 2006).

Na tentativa de estabelecer a validade dessa hipótese, Oliveira *et al.* (2004) realizaram um estudo comparativo e observaram que, a despeito da adição de cálcio, todos os agentes clareadores afetaram a microdureza do esmalte e que a presença desse elemento não evitou a perda mineral resultante do processo de clareamento. Na presente pesquisa, como já apresentado, as amostras submetidas à aplicação de ambos os géis tiveram, de fato, diminuição dos seus valores de microdureza superficial. Para o grupo que recebeu o agente clareador com cálcio, no entanto, essa redução foi estatisticamente menor quando comparada à do grupo que recebeu o agente clareador sem cálcio. Esse resultado vai de encontro a outros estudos e sugere o potencial benéfico da presença de cálcio para o esmalte dental exposto a clareadores (Giannini *et al.*, 2006; Schemehorn & Novak, 2007; Cavalli *et al.*, 2010; Borges *et al.*, 2009).

Além da análise de microdureza, essa pesquisa também analisou a concentração de cálcio e fósforo (EDS) após o clareamento e o efeito da imersão em saliva artificial na dinâmica de perda ou ganho mineral do esmalte submetido à ação dos peróxidos.

Após a microanálise de raios-x por Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS), obteve-se que a concentração de fósforo no esmalte dental diminuiu logo após o clareamento com ambos os clareadores, sendo que não houve diferença entre os mesmos, porém após 30 dias de imersão em saliva artificial os níveis voltaram aos padrões de normalidade. Já a concentração de cálcio variou entre os agentes clareadores empregados logo após sua aplicação, sendo que para o clareador comum essa concentração diminuiu apenas após a aplicação do agente. Levando em consideração a comparação do efeito dos agentes clareadores, destaca-se a ação conservadora do agente clareador com cálcio, que não provocou perda desse elemento do esmalte dental após sua aplicação. Cavalli *et al.*, em 2010, também relataram um

melhor desempenho do agente clareador com cálcio em relação a concentração desse elemento no esmalte dental, que pode ser explicado pelo fato dos agentes clareadores possuírem pH neutro e tornar possível a absorção de cálcio pelo esmalte, devido ao equilíbrio iônico que ocorre pela insaturação do esmalte durante o clareamento em comparação com o gel clareador (Cavalli *et al.*, 2010).

Quanto à saliva, os resultados foram positivos no restabelecimento da normalidade em relação às alterações causadas pelos agentes clareadores. Borges e outros, em 2010, submeteram amostras que tiveram sua microdureza reduzida após tratamento clareador à imersão em saliva artificial e não relataram alteração nos valores por essa substância. O presente estudo, assim como outros já realizados (Basting *et al.*, 2003; Araújo *et al.*, 2003; Tezel *et al.*, 2007), ao contrário, destaca a ação remineralizadora da saliva ao restabelecer valores de microdureza e taxas de cálcio (após 15 dias de imersão em saliva artificial) e fósforo (após 30 dias de imersão em saliva artificial) do esmalte dental. De fato, considera-se que a saliva tem um importante papel no processo de remineralização do tecido dental pela reação dos íons de cálcio, fosfato e flúor com os cátions disponíveis no esmalte (Amaechi & Higham, 2001).

Conclusão

Pode-se concluir que:

Ambos os agentes clareadores em estudo provocaram redução da microdureza do esmalte logo após o clareamento, mas a redução foi menor para o clareador com cálcio. Porém, após 15 dias de imersão em saliva artificial os valores se igualaram.

A concentração de Fósforo no esmalte dental clareado apresentou-se reduzida, porém após 30 dias de imersão em saliva houve aumento desses valores.

A concentração de Cálcio foi afetada somente para o clareador comum, entretanto após 15 dias de imersão em saliva artificial, houve restabelecimento da normalidade.

Referências Bibliográficas

1. AKAL N, OVER H, OLMEZ A, BODUR H. Effects of carbamide peroxide containing bleaching agents on the morphology and subsurface hardness of enamel. *J Clin Pediatr Dent*, Birmingham, 25(4):293-296, 2001.
2. AL-QUNAIAN TA. The effect of whitening agents on caries susceptibility of human enamel. *Oper Dent* 2005; 30(2): 265-70.
3. AL-SALEHI SK, WOOD DJ, HATTON PV. The effect of 24 hour non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *Journal of Dentistry* 2007; 35(11): 845-850.
4. AMAECHI BT & HIGHAM SM. In vitro remineralization of eroded lesions by saliva. *J Dent* 2001; 29:371-376
5. ARAÚJO EM, BARATIERI LN, VIEIRA LC, RITTER AV. *In situ* effect of 10% carbamide peroxide on microhardness of human enamel: Function of time. *J Esthet Restor Dent* 2003;15(3):166-174.
6. ATTIN T, KIELBASSA AM, SCHAWANENBERG M, HELLWIG E. The effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehab*, Oxford 24(4):282-86,1997.
7. ATTIN T, MÜLLER T, PATYK A, LENNON AM. Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel. *Oper Dent* 2004; 29(2): 188-195.
8. BARATIERI LN, MONTEIRO JR S, ANDRADA MAC, VIEIRA LCC. *Clareamento Dental*. São Paulo: Quintessence Books;1993, 176p.
9. BASTING RT, RODRIGUES JR AL, SERRA MC. Effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness at different time intervals. *J Am Dent Assoc*, Chicago, 2003, no prelo.
10. BERGAMASCHI M. Validação do modelo de ciclagem de pH e avaliação da efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e baixa

concentração de flúor. [dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”; 2003.

11. BERGER SB. Efeitos de agentes clareadores de alta concentração para o tratamento em consultório na microdureza, morfologia e composição química do esmalte humano. 2007. 135f. Dissertação (Mestrado em Materiais Dentários)- Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2007.
12. BORGES AB, SAMEZIMA LY, FONSECA LP, YUI KCK, BORGES ALS, TORRES CRG. Influence of Potentially Remineralizing Agents on Bleached Enamel Microhardness. *Operative Dentistry* 2009; 34(5): 593-597.
13. BORGES AB, YUI KCK, D'AVILA TC, TAKAHASHI CL, TORRES CRG, BORGES LS. Influence of Remineralizing Gels on Bleached Enamel Microhardness In Different Time Intervals. *Operative Dentistry* March 2010; 35, (2):180-186.
14. BURGMAIER GM, SCHULZE IM, ATTIN T. Fluoride uptake and development of artificial erosions in bleached and fluoridated enamel *in vitro*. *J Oral Rehabil* 2002; 29(9): 799-804.
15. CAVALLI V, GIANNINI M, CARVALHO RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater* 2004; 20(8): 733-9.
16. CAVALLI V, RODRIGUES LK, PAES-LEME AF, BRANCALION ML, ARRUDA MA, BERGER SB, GIANNINI M. Effects of bleaching agents containing fluoride and calcium on human enamel. *Quintessence Int* Sept 2010; 41(8):157-65.
17. CIMILLI H & PAMEIJER CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *Am J Dent*, Seattle, 14(2):63-66, 2001.
18. CREWS KM, DUNCAN D, LENTZ D, GORDY FM, TOLBERT B. Effect of bleaching agents on chemical composition of enamel. *Miss Dent Assoc J* 1997; 53: 20-1.
19. FLAITSZ C & HICKS MJ. Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surfaces and caries-like lesion formation: A SEM and polarized light microscopic *in vitro* study. *J Dent Child*, Chicago, 63(4):249-56, 1996.

20. GIANNINI M, CAVALLI V, PAES LEME AF. Effect of carbamide peroxide-based bleaching agents containing fluoride or calcium on tensile strength of human enamel. *Journal of Applied Oral Science* 2006; 11: 82-87.
21. GOLDSTEIN RE, GARBER DA. Complete dental bleaching. *Quintessence Books*, 1996.
22. HANKS CT, *et al.* Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J. Dent. Res.*, Washington, v.72, n.5, p.931-8, may. 1993
23. HAYWOOD VB, HEYMANN HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int.* March, 1989; 20(3): 173-176.
24. HAYWOOD VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int* 1992; 23(7):471-488.
25. HEGEDÜS C, BISTLEY T, FLÓRA-NAGY E, KESZTHELYI G, JENEI A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent*, Oxford, 27(7):509-515, 1999.
26. KARDOS S, SHI B, SIPOS T. The in vitro demineralization potential of a sodium fluoride, calcium and phosphate ion-containing dentifrice under various experimental conditions. *J Clin Dent* 1999; 10: 22-25.
27. LEE KH, KIM HI, KIM KH, KWON YH. Mineral loss from bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. *J Oral Rehabil* 2006; 33(3): 229-233.
28. LEWINSTEIN I, HIRSCHFELD Z, STABHOLZ A, ROSTEIN I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. *J Endod* Feb 1994; 20(2): 61-63.
29. LOPES GC, *et al.* Efeito dos agentes clareadores caseiros na dureza do esmalte. *Pesq Odont Bras* 2000; 14: 119 (B093).
30. LOPES GC, BONISSONI L, BARATIERI LN, VIEIRA LC, MONTEIRO S. Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *J Esthet Restor Dent* 2002; 14(1): 24-30.
31. LUSSI A. The influence of different factors on in vitro enamel surface. *Caries Research* 1993; 27:387-393.

32. McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10% carbamide peroxide. *J Dent* 1996; 24: 395-398.
33. Murchinson DF, Charlton DG, Moore BK. Carbamide peroxide bleaching: effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent*, Seattle, 17(5):181-185, 1992.
34. 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): 103-106.
35. Oogard B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001; 35: 40-44.
36. Park HJ, *et al.* Changes in bovine enamel after treatment with a 30% hydrogen peroxide bleaching agent. *Dent Mater J*, 23(4): 517-21, 2004.
37. Perdigão J, Franci C, Swift EJ, Ambrose WW, Lopes M. Ultra-morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide-bleached enamel. *Am J Dent* 1998; 11(6): 291-301.
38. Pinheiro JR EC, *et al.* In vitro action of various carbamide peroxide bleaching agents on the microhardness of human enamel. *Braz Dent J* 1996; 7: 75-9.
39. Potočnik I, Košec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod*, Baltimore, 26(4):203-206, 2000.
40. Rodrigues JA, Basting RT, Serra MC, Rodrigues AL. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. *Am J Dent* 2001; 14(2): 67-71.
41. Rodrigues JA, Marchi GM, Ambrosano GMB, Heyman HO, Pimenta LA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dental Materials* 2005; 21(11): 1059-1067.
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):23-5.
43. Ruse ND, *et al.* Preliminary surface analyses of etched, bleached and normal bovine enamel. *J Dent Res* 1990; 69: 1610-1613.

44. SCANNAVINO FLF. Efeito do tratamento com gel clareador na relação cálcio-fósforo do esmalte dentário. 2008. 80p. Tese (Doutorado). Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP. Araraquara, 2008.
45. SCHEMEHORN BR, NOVAK ED. Use of a calcium peroxide whitening agent for remineralization and recalcification of incipient lesions. *J Clin Dent* 2007; 18:126–130.
46. SCHEMEHORN BR, ORBAN BS, WOOD GD, FISCHER GM. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent* 1999a; 10: 13-16.
47. SHANON H, SPENSER P, GROSS K, TIRA D. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quintessence Int*, Berlin 24: 39-44, 1993.
48. SULIEMAN M. An overview of bleaching techniques: 2. Night guard vital bleaching and nonvital bleaching. *SADJ*. 2006; 61(8):352, 354.
49. TEZEL H, ERTAS OS, OZATA F, DALGAR H, KORKUT ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss of the enamel surface. *Quintessence Int* Apr 2007; 38(4): 339-347.
50. WHITE DJ, KOZAK KM, ZOLADZ JR, DUSCHNER HJ, GOTZ H. Effects os crest whitestrips bleaching on subsurface microhardness and ultrastructure of tooth enamel and coronal dentin. *Am J Dent* 2004; 17(1); 5-11.