



Waldemir Francisco Vieira Junior

***“EFEITO DA APLICAÇÃO DE DIFERENTES DENTIFRÍCIOS
PREVIAMENTE AO CLAREAMENTO DENTAL NAS
PROPRIEDADES FÍSICAS E CONTEÚDO MINERAL DO
ESMALTE”***

***“EFFECT OF DIFFERENT TOOTHPASTES APPLICATION
PRIOR TO DENTAL BLEACHING ON ENAMEL PHYSICAL
PROPERTIES AND MINERAL CONTENT”***

PIRACICABA

2015



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

WALDEMIR FRANCISCO VIEIRA JUNIOR

**“EFEITO DA APLICAÇÃO DE DIFERENTES DENTIFRÍCIOS PREVIAMENTE AO
CLAREAMENTO DENTAL NAS PROPRIEDADES FÍSICAS E CONTEÚDO
MINERAL DO ESMALTE”**

**“EFFECT OF DIFFERENT TOOTHPASTES APPLICATION PRIOR TO DENTAL
BLEACHING ON ENAMEL PHYSICAL PROPERTIES AND MINERAL
CONTENT”.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica, área de Dentística.

Dissertation presented to the Piracicaba Dental School of the University of in partial fulfillment of the requirements for degree of Master in Clinical Dentistry, in the area of Operative Dentistry.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Lovadino

Co-Orientadora: Profa. Dra. Debora Alves Nunes Leite Lima

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DEFENDIDA PELA
ALUNO WALDEMIR FRANCISCO VIEIRA JUNIOR, ORIENTADO
PELA PROF. DR. JOSÉ ROBERTO LOVADINO.

Assinatura do Orientador

PIRACICABA

2015

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

V673e Vieira Junior, Waldemir Francisco, 1989-
Efeito da aplicação de diferentes dentífricos previamente ao clareamento dental nas propriedades físicas e conteúdo mineral do esmalte / Waldemir Francisco Vieira Junior. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: José Roberto Lovadino.

Coorientador: Debora Alves Nunes Leite Lima.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Dentífricos. 2. Clareamento dental. 3. Espectrofotometria. 4. Arginina. I. Lovadino, José Roberto, 1953-. II. Lima, Debora Alves Nunes Leite, 1978-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Effect of different toothpastes application prior to dental bleaching on enamel physical properties and mineral content

Palavras-chave em inglês:

Dentifrices

Tooth bleaching

Spectrophotometry

Arginine

Área de concentração: Dentística

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

Debora Alves Nunes Leite Lima [Orientador]

Flávio Henrique Baggio Aguiar

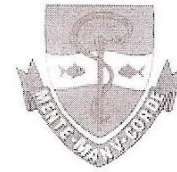
Maria Cecília Caldas Georgi

Data de defesa: 24-02-2015

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 24 de Fevereiro de 2015, considerou o candidato WALDEMIR FRANCISCO VIEIRA JUNIOR aprovado.

Handwritten signature of Debora Alves Nunes Leite Lima in blue ink.

Profa. Dra. DEBORA ALVES NUNES LEITE LIMA

Handwritten signature of Maria Cecília Caldas Giorgi in blue ink.

Profa. Dra. MARIA CECÍLIA CALDAS GIORGI

Handwritten signature of Flávio Henrique Baggio Aguiar in black ink.

Prof. Dr. FLÁVIO HENRIQUE BAGGIO AGUIAR

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito de dentifrícios com diferentes princípios ativos aplicados previamente ao clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35% (PH) nas propriedades físicas e cromáticas do esmalte, conteúdo mineral e na morfologia superficial. **Métodos:** Blocos de esmalte bovino foram submetidos a protocolos de tratamento na máquina simuladora de escovação (n = 10): 1) escovação com água destilada e exposição ao gel placebo (PLA - controle negativo) ou 2) gel clareador (PH - controle positivo), escovação com diferentes dentifrícios previamente ao clareamento com PH, sendo: 3) dentifrício com nitrato de potássio e fluoreto de sódio (PN), 4) com monofluorofosfato de sódio (FT), à base de 5) arginina 8%, Pro-Argin™ (PA), 6) arginina 1,5%, Neutraçúcar™ (SAN), ou 7) com vidro bioativo NovaMin™ (NM). No capítulo 1 foi realizada nos tempos inicial e final a análise da rugosidade superficial (Ra) e cor pelo sistema Cie L*a*b* (ΔE , ΔL , Δa e Δb). No tempo final foi avaliada a microdureza superficial (SMH) e a microdureza em profundidade (CSMH - 10, 25, 50, 75 e 100 μ m). No capítulo 2, a concentração iônica de fósforo no gel [P] foi analisada e determinada o nível elementar (%) de Ca, Na, P e proporção entre Ca / P por espectroscopia de energia dispersiva por raios-x (EDS) e a morfologia de superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os dados foram submetidos a teste Proc-Mixed de medidas repetidas (Ra), ANOVA (SMH, Nível elementar, [P] e Cor), ANOVA de parcelas subdivididas (CSMH) e teste de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados:** O clareamento dental (PH) diminuiu os valores de SMH e CSMH, entretanto os dentifrícios diminuíram o efeito da perda de CSMH e aumentaram a SMH (NM > PA = SAN > outros grupos). O clareamento aumentou a Ra em comparação ao PLA, todos os grupos tiveram aumento da Ra, exceto NM que não diferiu de PLA. Os valores de ΔE , ΔL e Δb não diferiram entre os grupos experimentais e o controle positivo (PH). O grupo PH aumentou a perda de fósforo [P], entretanto NM não diferiu de PLA. PH diminuiu os valores de % Ca em comparação PLA, no entanto PA não diferiu de PLA. MEV, apenas os grupos PH e FT demonstraram alteração de morfologia. **Conclusão:** O clareamento dental alterou as propriedades e conteúdo mineral do esmalte, entretanto a utilização

prévia de dentifrícios preveniu os efeitos negativos, sem interferir na eficácia do tratamento. O dentifrício com vidro bioativo demonstrou potencial efeito benéfico na terapia clareadora.

Palavras chave: Dentifrícios, clareamento dental, espectrofotometria, arginina.

Abstract

Objective: Evaluate the effect of toothpastes with different active agents applied prior to dental bleaching with 35% hydrogen peroxide on enamel properties, whiteness effectiveness, enamel mineral content and morphology surface.

Methods: 70 enamel blocks (4x4x2 mm) were submitted to *in vitro* treatment protocols in tooth-brushing machine (n=10): 1) with distilled water and exposure to placebo gel (PLA) or 2) bleaching with 35% hydrogen peroxide (HP); brushing with different toothpaste was performed prior the bleaching treatment (HP), being: 3) potassium nitrate toothpaste (PN) containing NaF, 4) conventional MFP fluoridated toothpaste (FT), 5) arginine-carbonate (8% arginine) based toothpaste (PA), 6) arginine-carbonate (1.5% arginine) based toothpaste (SAN) and 7) toothpaste containing bioactive glass (NM). In chapter 1, the color changes were characterized using the Cie L*a*b* system (ΔE , ΔL , Δa and Δb) and roughness (Ra) analysis was performed before and after treatments, surface microhardness (SMH) and cross-sectional microhardness (CSMH) were analyzed after treatments. In chapter 2, the phosphorus concentration in gel ([P]) was performed and the elemental levels (%) of Ca, Na, P and proportion between Ca/P were determined by Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDS) and morphology surface by Scanning Electron Microscopy (SEM). Data were analyzed PROC MIXED (Ra), ANOVA (SMH, %, [P], ΔE , ΔL , Δa and Δb), ANOVA split plot (CSMH) and Tukey's test post hoc ($p < 0.05$). **Results:** ΔE , ΔL and Δb were statically similarity in all bleached groups. After bleaching, SMH and CSMH decreased in HP and increased significantly in the treatment groups (SMH) versus the negative and positive control (NM > PA = SAN > all others groups) or decreased HP effects (CSMH). Ra increased in all bleached groups, with exception in NM that did not differ to PLA. HP increased the [P] loss, however only NM group application prior to HP did not differ of PLA. EDS analysis showed that HP decreased the % Ca values differing to PLA, the % P was increased in bleaching groups, however the PA group did not differ to PLA. SEM analysis presented the decrease of demineralization effect in groups submitted the toothpaste application prior to HP, with exception the HP and MFP group that demonstrated morphology

alteration. **Conclusion:** Dental bleaching affect the enamel properties and mineral content however toothpastes showed a potential effect in reducing the bleaching effects on the enamel properties without influence on the whiteness effectiveness. Furthermore, the toothpaste containing bioactive glass showed potential beneficial effect for bleaching therapy.

Keywords: Dentifrices, tooth bleaching, spectrophotometry, arginine.

SUMÁRIO:

DEDICATÓRIA	xiii
AGRADECIMENTOS	xv
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1: <i>Effect of toothpaste application prior to dental bleaching on whiteness effectiveness and enamel properties</i>	5
CAPÍTULO 2: <i>In vitro effect of different toothpastes before in office bleaching on enamel mineral content and surface morphology</i>	25
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44
APÊNDICE 1	49
APÊNDICE 2.....	63
ANEXO 1	76
ANEXO 2	77

Dedicatória

A **Beatriz de Almeida Lima**, minha sobrinha e amor da minha vida, por ter deixado minha vida mais leve nesse período e ser minha maior inspiração.

A minha mãe **Rosana Bueno de Almeida**, por toda dedicação, amor e zelo investido a mim, e por entender e incentivar minhas escolhas em busca do conhecimento.

A minha irmã **Patrícia de Almeida Vieira**, por todas as conversas de incentivo, mostrando o verdadeiro valor de uma vida baseada no amor.

Agradecimentos especiais

Ao meu orientador, **Professor Dr. José Roberto Lovadino**, por ser um exemplo de pessoa e profissional, me marcando eternamente como grande mestre de ensinamento da área da Odontologia que eu escolhi. Não existem palavras que demonstrem toda a gratidão que tenho ao senhor por ter me aceitado como orientado.

A minha co-orientadora, **Professora Dra. Débora Alves Nunes Leite Lima**, primeiramente por ter me aceitado como aluno e por possibilitar um ambiente estimulante de trabalho. Toda conversa ou momento junto a senhora me possibilitou evoluir e a certeza de estar profissionalmente onde eu queria estar. Infinitamente obrigado, agradeço a Deus por ter colocado a senhora na minha caminhada e, que possamos continuar trabalhando cada dia mais.

A **Professora Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, por toda a colaboração científica nesse trabalho e por todos esses anos de aprendizado. Sou o maior admirador do seu trabalho que me moldou como aluno, profissional e pesquisador. Além disso, agradeço a senhora por ter me aceitado como aluno desde a época da graduação, por toda a paciência em meus momentos de insegurança e imaturidade profissional, e por ter me embasado intelectualmente para essa fase. Muito Obrigado, a senhora no papel de pesquisadora, professora e orientadora foi e sempre será minha maior inspiração para o ingresso na pós-graduação e no mundo científico.

Ao **Professor Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar**, por ser um exemplo e espelho como professor e pesquisador, agradeço por ter me aceitado como aluno e ter me ajudado tanto nessa fase. Muito Obrigado pelo incentivo e colaboração em

meus trabalhos, definitivamente o senhor proporcionou diariamente o meu desenvolvimento profissional.

A **DEUS** por ter me dado saúde, proteção, paciência, inspiração nessa jornada e principalmente nos momentos de desassossego.

A meu pai **Waldemir Francisco Vieira** que sempre incentivou o valor do conhecimento e geneticamente me passou seu espírito questionador, indispensável na pesquisa científica. E me sinto honrado em levar seu nome, adicionado um Junior, em todo o meu trabalho desenvolvido nesse período. Agradeço também a Janaina Cássia, por ser declaradamente, uma incentivadora de tudo o que eu faço e me apoiar incondicionalmente.

A minha namorada **Carolina Turrise** que esteve comigo durante toda a caminhada, seja apoiando, ajudando, revisando ou escutando. Obrigado por todo o companheirismo, dedicação e paciência, esse trabalho só foi possível com todo o seu apoio. Em especial agradeço minha segunda família, **Zé Turrise, Vera Turrise e Thiago Turrise** por todo o apoio.

A minha grande amiga **Laura Nobre Ferraz** pela efetiva ajuda nesse trabalho e por se fazer presente em todos os momentos desse período com muita dedicação, carinho e humor. Muito obrigado, torço muito por você e que possamos continuar nossos trabalhos, nessa eterna colaboração.

A minha família, especialmente minhas primas **Karin e Kelly**, meu primo **Renato**, meus tios **Eder e Solange**, meu avô **Roque** e minha avó **Cidália**.

Agradecimentos

A Faculdade de Odontologia de Piracicaba e a Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do **diretor Prof. Dr. Guilherme Elias Pessanha Henriques** e do **diretor associado Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**.

A **Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, coordenadora geral dos cursos de Pós Graduação e a **Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz**, coordenadora do curso da Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

As professoras, **Profa. Dra. Giselle Maria Marchi**, **Profa. Dra. Fernanda Miori Pascon** e **Profa. Dra. Lúcia Prieto Trazzi**, pela atenção, leitura cuidadosa e conhecimentos dispensados no exame de qualificação.

Aos professores da Área de Dentística, **Prof. Dr. Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo**, **Prof. Dr. Luis Roberto Marcondes Martins**, **Prof. Dr. Marcelo Giannini**, **Profa. Dra. Giselle Maria Marchi**, **Profa. Dra. Débora Alves Nunes Leite Lima**, **Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar** e **Prof. Dr. José Roberto Lovadino**, por todo conhecimento transmitido.

Aos Professores e amigos, **Profa. Dra. Maria Cecília Giorgi** e **Prof. Dr. Anderson Catelan** por toda a amizade, conhecimento transmitido e apoio nesse período. Muito Obrigado mesmo!

Aos Professores da Faculdade de Odontologia de Piracicaba que de alguma forma me transformaram, incentivaram, transmitiram conhecimento e são alvo de toda minha admiração e gratidão, a eles **Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury**, **Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta**, **Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury**, **Prof. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, **Profa. Dra. Luciana Asprino**, **Profa. Dra. Marinês Nobre dos Santos** e **Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi**

Ambrosano meu muito obrigado. Ao **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho** pela autorização e suporte para o uso dos equipamentos do laboratório da Área de Materiais Dentários.

A **Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano**, agradeço especialmente a atenção dada ao meu trabalho, a paciência e ao auxílio na metodologia estatística.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba que possibilitam diariamente que essa instituição funcione, especialmente as minhas colegas **Vanessa e Zazá**. Ao engenheiro **Marcos**, Área de Materiais Dentários, pelo auxílio e prontidão. Ao biólogo **Adriano Martins** por todo apoio, paciência e suporte para o uso do microscópio eletrônico de varredura e EDS. Ao técnico do laboratório de Bioquímica Oral, **José Alfredo da Silva** por toda atenção e amizade nesses anos. A Área e Laboratório de Bioquímica Oral, e especialmente a **Waldomiro Vieira Filho** por toda a paciência e ajuda imprescindíveis para a conclusão desse trabalho nas análises realizadas.

A secretária da Área de Dentística, **Mônica Barnabé** por todo o convívio, humor e ajuda sem a qual não seria possível realizar ou defender esse projeto.

Aos meus amigos, que na forma de pós-graduandos em meu período de graduação me incentivaram e, diretamente ou indiretamente, responsáveis por minhas escolhas profissionais e embasamento científico. A eles, hoje professores doutores, **Prof. Dr. Rodrigo Alex Arthur, Prof. Dr. Glaúber Valle, Prof. Dra. Carolina Aires, Prof. Dr. Diogo Azevedo Miranda, Profa. Dra. Maria Beatriz D'Arce, Prof. Dra. Priscila Camondy e Prof. Dr. Carlos Eduardo Bertoldo**.

A todos os meus amigos e colegas de mestrado, especialmente a **Jéssica Theobaldo**, por ter feito papel de minha irmã nesse período e ser incomparável, a **Cristiane Yanikian** por ser incrível em tudo que faz (sou seu fã), a **Suelem Chasse** pela amizade e ajuda. A **Michele Lima e Mari Miura** por todos os momentos de descontração, apoio, cafés, clínicas e principalmente por fazerem desse período o

mais agradável possível. A minhas amigas de orientação, **Thayla Helen e Marília Zeczkowski** pelo carinho, zelo e ajuda mútua.

A **Núbia Pini**, agradeço infinitamente por ter te conhecido e aprendido tanto com você nesse período, por toda a amizade, apoio, conversas, *insights* científicos, humor e ajuda. Você é o meu referencial, eu só tenho a agradecer por poder conviver com uma pessoa tão grande profissionalmente, moralmente e pessoalmente como você. Muito Obrigado!

A **Juliana Públio**, agradeço por todos os anos de amizade e por ter sido meu espelho e grande incentivadora para o ingresso na pós-graduação. Você é realmente admirável e a convivência profissional é incentivadora, não existem palavras para expressar o quanto você foi e é importante em minhas escolhas. Muito Obrigado!

A **Maria Jordão**, sua amizade foi um presente que o mestrado me trouxe, obrigado por todas as palavras de incentivo sem você nada disso seria possível.

A **Livia Aguilera Gaglianone**, obrigado por toda a amizade, palavras de sabedoria e por ter me ensinado a levar esse período com humor, você é um exemplo profissional e pessoal, muito obrigado!

A Turma 51 da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, por todos os anos de amizade e especialmente a **Mariana Minatel, Karina Kiss, Indy Chinaqui, Gisele Mattos, Daphnis, Grazielle Coelho, Cindy Goes** pelo incentivo, minha eterna gratidão.

A **Thatiana de Vicente Leite e Henrique Heringer**, agradeço a Deus por poder ter conhecido vocês melhores nessa fase e admira-los ainda mais. E ainda por ser personificação diária da nossa turma de graduação. A **Lenita Lopes**, por ser essa pessoa excepcional e amável. Muito obrigado por todos esses anos de cumplicidade e por ser minha primeira colaboração científica, não seria nada sem você.

Aos meus amigos de vida, desde o tempo remoto do colégio até hoje. Agradeço a **Ana Paula Christe, Mayra Prado, Mayra Schwarzwaldler, Paola Morello, Renata Lima, Paula Mie, Ali Chamas, Leandro Del Picchia, Dayvison Hauch, Gustavo Klein** e a toda nossa turma, formandos de 2006. A vocês meu muito obrigado.

A **Rosana Schunck Cazac e Débora Schunck Cazac** por todo o apoio e serem responsáveis diretamente pela minha formação profissional e pessoal. Muito Obrigado! A União Escola de Ensino Básico, por proporcionar minha base intelectual e de personalidade, especialmente aos professores que me modificaram e sempre me incentivaram, a eles **Rita Rainha, Antônio de Moraes Lopes (Canhoto), Jorge Reis, Milton Takano, Lucimar Hessel, Perla Pires e Márcia Bueno**, agradeço eternamente, pois tudo começou com vocês.

Aos meus amigos do teatro, que foram meu escape nessa fase. Agradeço diariamente pela existência de vocês, a vocês **Carol Folegatti, Fabi Corteis, Bruna Comin, Iza Molinari, Amanda Ventura, Leandro Guapo, Gustavo Fortunato, Fe Olival, Amanda Antonini, Rubens Alves, Miguel Arcanjo, Victor Iannicelli e Vinicius Tarzo**.

Aos funcionários SAP - Governo do Estado de São Paulo, pela paciência e incentivo nessa fase, nas pessoas do senhor **Diretor Geral Odirlei Arruda de Lima**, das diretoras do DCRAS e setor de Saúde **Adilene Gonçalves Vieira, Marizene Pereira e André Gonçalves**, e aos meus grandes amigos **Michelle Micheletti, Carina Dangel, Celeste, Karina Araújo, Jussara Prazeres, Mônica, Osmair, Vitória, Maria Inês e Maria Luíza**.

As **turmas de graduação** da FOP, por me permitirem exercitar o aprendizado e também pela amizade disposta nessa troca recíproca, especialmente a turma 55 dessa instituição. A todos que contribuíram para a realização deste projeto. Muito Obrigado!

INTRODUÇÃO

A odontologia estética vem sendo amplamente discutida e protocolos de tratamentos para dentes com alteração de cor foram desenvolvidos. Dentre estes, o procedimento clareador tornou-se um tratamento atrativo, pois é um procedimento conservador que, quando corretamente indicado, promove melhora estética da aparência do sorriso (Kihn, 2007; Li, 2011). A coloração intrínseca do dente está associada às propriedades de dispersão e absorção de luz pelo esmalte e dentina, entretanto, a dentina determina a coloração geral do dente (Ten Bosch, et al. 1995).

O mecanismo de ação do clareamento dental ainda não foi totalmente esclarecido. A teoria mais aceita sugere que o peróxido de hidrogênio percorre por difusão o esmalte até a dentina, onde reage com os cromógenos responsáveis pela alteração de cor (Ontiveros et al., 2009), através de uma reação de oxirredução. Essa difusão é favorecida devido ao baixo peso molecular do peróxido de hidrogênio e de seus subprodutos, facilitando o percurso desta molécula pelos tecidos dentais mineralizados (Eimar et al., 2012) e, ainda, pela afinidade química específica do peróxido de hidrogênio com cada um desses tecidos (Ubal dini et al, 2013). Assim, as moléculas de pigmento ficam pequenas o suficiente para serem removidas da estrutura dental através de difusão e, indiretamente, promove a redução da absorção de luz, deixando o dente aparentemente mais claro (Sulieman, 2004). As reações químicas que permeiam esse processo dependem de fatores como temperatura, pH, concentração e biodisponibilidade do peróxido de hidrogênio (Kugel et al., 2007; Minoux et al., 2008)

A difusão dos agentes clareadores do esmalte até a dentina se deve, preferencialmente, pela existência de poros ou canais de difusão no esmalte (Ying et al., 2004) que são ocupados por uma rede macromolecular de material orgânico que controla as reações de difusão nesse tecido dental (Maung et al. 2007).

Os agentes clareadores à base de peróxidos são apresentados, mais comumente, na forma de géis, para o melhor controle da aplicação pelo profissional ou pelo paciente com supervisão. Estes produtos estão disponíveis

com variação de 6 a 38% de peróxido de hidrogênio ou 10 a 37% de peróxido de carbamida e são utilizados na técnica caseira, de consultório ou combinada. A técnica caseira, desenvolvida por Haywood e Heymman em 1989, amplamente utilizada até hoje, preconiza o uso do peróxido de carbamida (concentração de 10 – 22%) ou peróxido de hidrogênio em concentrações menores (1,5 – 12%), por um período de 2 a 6 semanas. Para outro procedimento clareador de dentes vitais foi desenvolvida a técnica de consultório (*in-office, power bleaching*), utilizando peróxido de hidrogênio (30 a 38%) ou peróxido de carbamida (30 a 37%).

O clareamento dental é considerado, quando corretamente indicado, um tratamento eficaz e relativamente seguro (Kihn, 2007; Li, 2011). No entanto, os efeitos dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários não foram completamente esclarecidos. Estudos mostram que alterações na morfologia e propriedades dos tecidos podem ocorrer, tais como: 1) aumento da permeabilidade e da rugosidade de superfície (Hosoya et al., 2003; Camargo et al., 2007; Markovic et al., 2007); 2) diminuição da microdureza de superfície e subsuperficial (Efeoglu et al., 2004; Al-Salehi et al., 2006); 3) alterações topográficas visualizadas em Microscopia Eletrônica de Varredura (Gomes et al., 2009; D'Amario et al., 2012) e 4) perda de íons Cálcio e Fósforo do elemento dental para o gel clareador (Lee et al., 2006; Al-Salehi et al., 2006). A intensidade e casuística de tais alterações variam de acordo com diferentes métodos e modelos de estudos (Attin et al., 2009).

A sensibilidade dental decorrente do clareamento é o efeito adverso mais comum (Leonard et al., 1998; Pretty et al., 2006). Este efeito se inicia com o início do tratamento e tende a cessar após a interrupção do mesmo (Matis et al., 1998). A literatura sugere que essa sensibilidade é oriunda da difusão dos peróxidos pelos substratos dentais (Li, 2011), sendo que o peróxido de hidrogênio é capaz de atingir a polpa dental, mesmo quando este gel é utilizado em baixas concentrações (Holland et al., 1997).

A ação do peróxido de hidrogênio na polpa dental humana é ainda controversa. A polpa possui oxidantes capazes de neutralizar em parte os radicais livres e os produtos da difusão dos agentes clareadores; porém, fatores

celulares individuais determinam a capacidade da célula de eliminar estes produtos citotóxicos (Martindale et al., 2002). Assim, torna-se imprescindível que protocolos terapêuticos sejam corretamente executados, visto que a etiopatogenia das lesões pulpares frente ao peróxido de hidrogênio ainda não foi totalmente esclarecida.

Protocolos terapêuticos foram desenvolvidos a fim de diminuir a sensibilidade durante o clareamento, dentre eles os dentifrícios para hipersensibilidade dental são indicados, particularmente devido ao seu baixo custo, facilidade de uso e aplicação caseira (Haywood et al., 2005; Porto et al., 2009). Especificamente, ao dentifrício a base de nitrato de potássio foi relacionada a diminuição da sensibilidade durante o clareamento (Haywood et al., 2005). Essa dessensibilização ocorre devido aos sais de potássio, pois o íon potássio reduz a excitabilidade das fibras nervosas pulpares e seus prolongamentos e, se presente em uma concentração acima da fisiológica, ele induz uma despolarização celular que bloqueia a resposta neural frente ao estímulo doloroso (Markowitz et al., 1992; Markowitz, 2009). Entretanto, a interação química desses dentifrícios com o clareamento dental sobre as propriedades do esmalte é desconhecida.

Além dos dentifrícios à base de nitrato de potássio, atualmente, é amplamente discutido o uso de dentifrício a base de arginina 8%, carbonato de cálcio e 1450 ppm de fluoreto (Pro-Argin™) para pacientes com hipersensibilidade dentinária, mostrando-se efetivo (Lavender et al., 2010). A arginina tem a capacidade de obliterar os túbulos dentinários e impedir a movimentação dos fluídos nos canálculos e, conseqüentemente, o estímulo doloroso. Além do seu potencial para oclusão dos túbulos dentinários, no biofilme, a arginina possui capacidade de neutralizar os ácidos formados pela metabolização bacteriana de carboidratos cariogênicos (Wolff et al., 2013) e, ainda, pode atuar revertendo os danos da desmineralização e promover a remineralização na associação com flúor e carbonato de cálcio (Wolff et al., 2013). A aplicação de produtos a base de arginina, posteriormente ao clareamento dental com peróxido de carbamida 10%, mostrou-se promissora na reversão dos efeitos desmineralizantes (Yesilyurt et al., 2013).

Outro princípio ativo muito discutido e utilizado hoje é o baseado na tecnologia Novamin™ (vidro bioativo). Os dentifrícios com essa tecnologia contém fosfossilicato de sódio e cálcio que são altamente biocompatíveis e apresentam potencial efeito na remineralização dental (Burwell et al., 2009, 2010). Quando em solução aquosa, como a saliva, esse dentifrício possibilita um aumento na biodisponibilidade de cálcio, fosfato e sódio, acarretando na formação de uma camada de apatita hidroxicarbonatada cristalina (Burwell et al., 2009), quimicamente semelhante à apatita natural do dente. A aplicação de dentifrícios com esse princípio ativo após o clareamento com peróxido de carbamida 16% mostrou efetividade na remineralização do esmalte clareado e reversão de possíveis danos às suas propriedades (Gjorgievska & Nicholson, 2013). Um prospecto geral sobre os princípios ativos de dentifrícios indicados para o tratamento da hipersensibilidade é apresentado no Apêndice 1 dessa dissertação.

Devido ao desconhecido em relação a protocolos de tratamento e o processo de sensibilidade residual pós-clareamento, por muitas vezes, o paciente é orientado a utilizar dentifrícios comerciais para a sensibilidade, ou ainda, fazem o uso desses dentifrícios por decisão própria. Não há trabalhos na literatura que avaliem o efeito dos dentifrícios indicados para hipersensibilidade dentinária quando utilizados previamente ao clareamento na efetividade clareadora. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, o efeito de diferentes dentifrícios indicados para hipersensibilidade dentinária aplicados previamente ao clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35% nas propriedades físicas, morfologia superficial e conteúdo mineral do esmalte.

**Effect of toothpaste application prior to dental bleaching on whiteness
effectiveness and enamel properties**

Running title: Effect of toothpaste before dental bleaching

Clinical Relevance: Toothpaste treatment could decrease bleaching effects to the enamel properties without influencing the effectiveness of whiteness. Specially, the bioactive glass based toothpaste demonstrated a potential benefit for bleaching therapy

SUMMARY

Objective: To investigate the effects on the enamel properties and effectiveness of bleaching using 35% hydrogen peroxide (HP) when applying toothpastes with different active agents before dental bleaching. **Materials and Methods:** 70 enamel blocks (4x4x2 mm) were submitted to *in vitro* treatment protocols in a tooth-brushing machine (n=10): with distilled water and exposure to placebo gel (NG - negative control) or HP bleaching (HP - positive control); and brushing with differing toothpastes prior to bleaching (HP), including: potassium nitrate toothpaste (PN) containing NaF, conventional MFP fluoridated toothpaste (FT), arginine-based toothpastes (PA and SAN), or a toothpaste containing bioactive glass (NM). Color changes were determined using the CIE L*a*b* system (ΔE , ΔL , Δa and Δb) and roughness (Ra) analysis were performed before and after treatments. Surface microhardness (SMH) and cross-sectional microhardness (CSMH) were analyzed after treatment. Data were analyzed PROC MIXED (Ra), ANOVA (SMH, ΔE , ΔL , Δa and Δb), ANOVA split plot (CSMH) and Tukey's test post hoc ($p < 0.05$). **Results:** Color changes were statically similar in the bleached groups. After bleaching, SMH and CSMH decreased in HP and increased significantly in the treatment groups versus the negative and positive control (NM > PA = SAN > all other groups for SMH) or decreased HP effects (CSMH). Ra increased in all bleached groups, with the exception of NM, which did not differ from the NG. **Conclusion:** Toothpastes showed a potential effect for reducing the bleaching effects on enamel without influencing the effectiveness

of bleaching. Furthermore, the toothpaste containing bioactive glass showed a potential effect for bleaching therapy.

Keywords: Toothpaste, Tooth bleaching, Spectrophotometer, Arginine, Bioactive glass.

INTRODUCTION

Since the demand for aesthetic dentistry has extensively increased recently, treatment protocols for altering tooth color have been developed, with tooth bleaching becoming an attractive treatment.¹ The whitening mechanism is unclear, although it most likely involves the diffusion of hydrogen peroxide through the enamel, where it reacts with the chromogens responsible for dental discoloration.² The hydrogen peroxide, as an oxidizing agent, breaks down the pigment molecules and makes them enough small to be removed from the dental structure through diffusion, which indirectly promotes the reduction of light absorption. This reduction in light absorption produces a significant reduction in the yellowness of dentin and an increase in whiteness for the tooth.³

Tooth bleaching is currently considered a safe treatment.⁴ However, the effects of bleaching agents on dental tissues are not completely understood. *In vitro* studies show that changes in morphology and properties of dental tissues can happen, such as: 1) an increase in permeability and surface roughness^{5,6,7} and 2) a decrease in surface and cross-sectional microhardness.^{8,9} Despite favorable results and effectiveness of bleaching agents, some studies have reported side effects, with the intensity and frequency of these side effects associated with different experimental designs.¹⁰ In most studies, saliva is indicated as an important agent in modulating the bleaching effects.¹¹

Tooth hypersensitivity from dental bleaching has also been related^{12,13} and is considered the most common adverse effect for the treatment.¹⁴ This effect starts at the beginning of the procedure and ends after discontinuing the use of the product.¹⁵ In order to eliminate the side effects of dental bleaching, the use of remineralization systems, as fluoride or casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP), have been suggested for use during or after treatment.^{16,17} Additionally, the use of bleaching gel that includes these systems has been discussed.^{18,19} With regards to tooth hypersensitivity, Haywood and

others²⁰ demonstrated that the use of potassium nitrate toothpaste reduced bleaching sensitivity. Additionally, dentifrices containing non-fluoridated remineralization systems, such as arginine (Pro-Argin™) or calcium sodium phosphosilicate (Novamin™ - bioactive glass), have been studied for preventing and treating tooth sensitivity.^{21,22} However, there are few studies regarding the application of remineralizing compounds and dentifrices containing desensitizing agents prior to dental bleaching, mainly in relation to enamel properties and effectiveness of bleaching.

The present study investigated the effects on enamel of toothpastes with different active or desensitizing agents before dental bleaching using 35% hydrogen peroxide by evaluating the effectiveness of bleaching, using color analysis, microhardness and surface roughness to evaluate the properties and morphology of enamel. The null hypothesis tested was that the toothpaste application prior to dental bleaching would not affect the whiteness effectiveness and would not protect enamel against any deleterious effects of hydrogen peroxide.

MATERIAL AND METHODS

Sample preparation

Young bovine teeth were stored in a 0.01% thymol solution at 4°C for 30 days until use. Enamel/dentin blocks of 4 x 4 x 2 mm – with 1 mm of enamel and 1 mm of dentin, were obtained from the middle third of the buccal surface using a low speed water-cooled diamond saw (Isomet, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, USA). The specimens were then subsequently serially ground with 600-, 1000- and 2000-grit SiC papers (Buehler, Lake Bluff, IL) and polished with cloths and diamond spray (1 µm, 0.5 µm, 0.25 µm - Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Between the polishing steps and at the end of this procedure, all samples were placed in an ultrasonic machine for 10 minutes (Marconi, Piracicaba, São Paulo, SP, Brazil) to remove residual particles and smear layers to obtain a standardized enamel surface. The surfaces of the specimens, with the exception of the enamel surface, were protected with acid resistant varnish (Risqué Colorless, Taboão da

Serra, SP, Brazil). Prior to (24 hours) and during the experiment, all prepared specimens were stored in a 37°C incubator and artificial saliva that was renewed every day of the study. The artificial saliva contained 1.5 mM Ca, 0.9 mM Pi, 150 mM KCL, 0.05 µg F/mL, 0.1 M Tris buffer, pH 7.0.²³

Toothpaste treatment

The specimens were submitted to simulated brushing using toothbrush heads (Oral-B Indicator 40 Soft, Gillette do Brasil Ltda., Manaus, AM, Brazil) coupled to an automatic tooth-brushing machine (Equilabor, Piracicaba, SP, Brazil) with a static axial load of 200g and a speed of 5 movements/second, at 37°C.²⁴ One month of tooth brushing was simulated using 750 cycles.²⁵

Enamel blocks were brushed with toothpaste slurry (1:3) or distilled water.²⁴ Information on the toothpastes used, to include manufacturers and components, are detailed in Table 1. Additionally, the pH of the toothpastes was determined in triplicate using a pHmeter (Procyon, São Paulo, Brazil) and the fluoride concentration (total fluoride, ionizable fluoride and total soluble fluoride) in the toothpastes was determined as previously described,²⁶ using a specific ORION 96-06 electrode and an EA 940 ion analyzer (Orion, Boston, USA). These results are described in Table 2. All samples were randomly divided into seven groups, according to the treatments:

- brushing with distilled water and placebo gel exposure (NC - negative control)
- brushing with distilled water and bleaching with 35% HP (PC - positive control)
- brushing with potassium nitrate toothpaste containing NaF and bleaching with 35% HP (PN)
- brushing with conventional MFP fluoridated toothpaste and bleaching with 35% HP (FT)
- brushing with arginine-based toothpaste (8% arginine, Pro-Argin™ Technology) and bleaching with 35% HP (PA)
- brushing with arginine-based toothpaste (1.5% arginine, Sugar Acid Neutralizer™) and bleaching with 35% HP (SAN)
- brushing with toothpaste containing bioactive glass (Novamin™) and bleaching with 35% HP (NM)

After each brushing treatment, the specimens were washed with distilled water for 10 s and stored in artificial saliva for 24 hours, before each dental bleaching procedure.

Table 1: Products, manufacturers and components of toothpastes.*

Toothpaste	Manufacturer	Active agent	Fluoride agent	Other components
Sensodyne™ Fresh Impact (PN)	GlaxoSmithKline Brasil Ltda, Rio de Janeiro, Brazil	5% Potassium Nitrate	Sodium Fluoride (NaF) 1426 ppm	Water, hydrated silica, sorbitol, glycerin, cocamidopropyl betaine, xanthan gum, titanium dioxide, sodium saccharin, sucralose, mentha piperita, d- limonene
Colgate™ Fluoridated Toothpaste (FT)	Colgate- Palmolive, São Bernardo do Campo, Brazil	-	Sodium Monofluorophosphate (MFP) 1450 ppm	Water, calcium carbonate, glycerin, sodium lauryl sulfate, cellulose gum, tetrasodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, benzyl alcohol, sodium saccharin, sodium hydroxide
Colgate™ Sensitive Pro relief Pro-Argin™ Technology (PA)	Colgate- Palmolive, São Bernardo do Campo, Brazil	8% Arginine	MFP 1450 ppm	Water, calcium carbonate, sorbitol, arginine bicarbonate, sodium lauryl sulfate, cellulose gum, titanium dioxide, tetrasodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, benzyl alcohol, sodium saccharin, xanthan gum, limonene
Colgate™ Maximum Cavity Protection PLUS Sugar Acid Neutralizer™ (SAN)	Colgate- Palmolive, São Bernardo do Campo, Brazil	1.5% Arginine	MFP 1450 ppm	Water, calcium carbonate, glycerin, arginine bicarbonate, sodium lauryl sulfate, cellulose gum, titanium dioxide, tetrasodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, benzyl alcohol, sodium saccharin, sodium hydroxide
Sensodyne™ Repair & Protect Novamin™ Technology (NM)	SmithKline Beecham Consumer Heathcare, Berkshire, United Kingdom	5% Calcium sodium phosphosilicate	MFP 1426 ppm	Glycerin, silica, PEG-8, titanium dioxide, carbomer, cocamidopropyl betaine, sodium methyl cocoyl taurate, sodium saccharin, d-limonene

* According to manufacturer's information

Bleaching procedure

The bleaching treatment was performed using 35% hydrogen peroxide (Whiteness HP, FGM, Joinville–SC, Brazil), according to the manufacturer's instructions. The bleaching agent was applied three times for 15 minutes on the enamel surface. The negative control group was exposed to a treatment with a placebo gel (Proderma, Piracicaba, SP, Brazil), composed of distilled water, neutralized carbopol, glycerin and triethanolamine, which was buffered to pH 6.0 (which was similar to the initial pH of the commercial bleaching gel used in this study). The specimens were then washed with distilled water and analyzed. The initial and final pH of the bleaching agent was measured in triplicate: initial pH= 5.64; after 15 minutes pH= 4.87.

Color measurements

Color reading of each specimen was performed at an ambient light condition (GTI MiniMatcher MM 1 - GTI Graphic Technology Inc., New York, USA) in standardized day light. The color was measured using a spectrophotometer (CM 700d, Minolta, Osaka, Japan). The spectral distribution was measured based on the CIE L*a*b* system, using On Color software (Konica Minolta, Osaka, Japan). L* represents the luminosity (white-black) axis, a* represents the green–red axis and b* represents the blue–yellow axis. Before measurement, the spectrophotometer was calibrated using white and black reflectance standards, according to the manufacturer's protocol. The differences in the L*, a* and b* values between initial (baseline) and final (after 24 hours of bleaching) were expressed (ΔL , Δa , Δb) and any color change was calculated using the following expression: $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$. The initial L* value of each sample was used to stratify and allocate specimens into all experimental groups.

Surface roughness

The enamel roughness (Ra) was analyzed at two times: before (baseline) and 24 hours after bleaching using a profilometer (Surf-Corder 1700, Kosaka, Tokyo, Japan). Three different equidistant directions were measured on the

surface of each specimen, with a cut off of 0.25 mm and at a velocity of 0.1 mm/s.

Microhardness analysis

The enamel surface microhardness (SMH) was analyzed after the treatments using a Knoop indenter at a load of 50g and time of 5s in a microhardness tester (HMV-2000 Shimadzu, Tokyo, Japan). Five indentations were made in each sample, 100 μm apart, and the average was calculated to determine the KNH. For the cross-sectional microhardness (CSMH) tests, the specimens were longitudinally sectioned through the center and one half was embedded in acrylic resin, exposed and gradually polished as previously described. Three rows of 5 indentations were made in the central area of the slab using the microhardness tester, using a load of 50 g and time of 5 seconds, with the measurements occurring 10, 25, 50, 75 and 100 μm from the enamel surface. The mean values at all three measuring points at each distance were then determined.

Statistical analysis

After exploratory analysis using the SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, Release 9.1, 2003), the data were subjected to analysis using models for repeated-measures by PROC MIXED (Ra), analysis of variance – ANOVA (SMS, ΔE , ΔL and Δb), ANOVA (Split Plot) of subdivided parcels (CSMH) and Tukey's test were used for group comparisons, at a 5% level of significance.

RESULTS

Considering the results of Table 2, the FT, PA, SAN and NM groups presented a slightly alkaline pH. In addition, the PN group demonstrated higher values for ionic fluoride concentration. Overall, all groups showed that the total fluoride present in toothpastes was equal or very similar to what the manufacturer declared.

Table 2. Fluoride concentration and pH of toothpastes.

Toothpaste	Fluoride agent	pH	Total fluoride (ppm)	Total soluble fluoride (ppm)	Ionic fluoride (ppm)
PN	NaF (1426 ppm)	7.26	1426.8	1440.1	1416.4
FT	MFP (1450 ppm)	9.44	1486.8	1081.7	247.8
PA	MFP (1450 ppm)	9.07	1524.5	1154.5	338.1
SAN	MFP (1450 ppm)	9.36	1390.7	1127.8	161.0
NM	MFP (1426 ppm)	9.64	1412.3	1411.3	64.6

Toothpastes containing: PN, potassium nitrate (with NaF); FT, fluoride as MFP; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass.

Based on color analysis (Table 3), the positive control differed statically from negative control for the ΔL , Δb and ΔE values ($p < 0.001$), with increasing L^* values and decreasing b^* values. However, the Tukey's test did not demonstrate a statistical difference between the toothpaste groups and the positive control, indicating that these toothpastes did not act directly on the ΔL , Δb and ΔE values of the specimens during dental bleaching. The PN group demonstrated Δa values that differed statistically from the positive control ($p < 0.05$), although the ΔL , Δb and ΔE values were similar to the other bleached groups.

Table 3. Mean (standard deviation) for ΔL , Δa , Δb and ΔE based on treatment group (n=10).

	ΔL	Δa	Δb	ΔE
Negative control	0.14 (1.0) ^B	-0.14 (0.3) ^{AB}	0.72 (0.9) ^B	1.45 (0.5) ^B
Positive control	2.53 (1.0) ^A	-0.45 (0.4) ^B	-5.31 (0.8) ^A	5.96 (1.0) ^A
PN	2.37 (1.0) ^A	0.16 (0.5) ^A	-4.90 (0.8) ^A	5.54 (0.9) ^A
FT	1.85 (0.9) ^A	0.14 (0.4) ^{AB}	-4.90 (0.6) ^A	5.31 (0.7) ^A
PA	2.48 (1.4) ^A	-0.09 (0.3) ^{AB}	-5.48 (1.3) ^A	6.18 (1.2) ^A
SAN	2.41 (1.4) ^A	-0.06 (0.6) ^{AB}	-5.25 (1.3) ^A	5.92 (1.5) ^A
NM	2.42 (1.0) ^A	-0.10 (0.5) ^{AB}	-4.61 (1.3) ^A	5.27 (1.5) ^A

Negative control, unbleached; Positive control, bleaching with 35 % hydrogen peroxide (HP). Toothpaste prior to HP: PN, potassium nitrate (with NaF); FT, MFP fluoridated; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Identical letters indicate no significant difference ($p > 0.05$) among different groups at the same stage (vertical).

From the means of the initial and final roughness values (Table 4), the results of the positive control showed increasing R_a values, although no statistically significant difference was found between the FT, PA and PN groups ($p > 0.05$). Nevertheless, the negative control did not increase or decrease the surface roughness, with no statistically significant difference between times

($p > 0.05$). In the toothpaste groups, the NM treatment in association with dental bleaching did not affect the enamel roughness, with no statistical difference with the negative control or between times. In contrast, the results suggest that the SAN group increased in surface roughness, which was statistically different from the other experimental and control groups ($p < 0.001$).

Table 4. Mean (standard deviation) for initial and final roughness values (Ra) based on treatment group (n=10).

	Initial Ra	Final Ra
Negative control	0.11 (0.02) ^{Aa}	0.10 (0.02) ^{Ac}
Positive control	0.11 (0.01) ^{Ba}	0.14 (0.01) ^{Ab}
PN	0.11 (0.02) ^{Ba}	0.15 (0.01) ^{Ab}
FT	0.11 (0.01) ^{Ba}	0.14 (0.03) ^{Ab}
PA	0.11 (0.02) ^{Ba}	0.13 (0.01) ^{Ab}
SAN	0.11 (0.01) ^{Ba}	0.23 (0.02) ^{Aa}
NM	0.11 (0.02) ^{Aa}	0.11 (0.02) ^{Ac}

Negative control, unbleached; Positive control, bleaching with 35 % hydrogen peroxide (HP). Toothpastes prior to HP: PN, potassium nitrate (with NaF); FT, MFP fluoridated; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Means followed by different letters (upper in horizontal and lower in vertical) are different by Proc-Mixed model and Tukey's test ($p < 0,001$)

In the positive control group, the bleaching caused a significant loss of surface microhardness (Figure 1 – KHN results). In contrast, although bleached, the experimental groups increased in surface microhardness, which was also statistically different from the negative control (unbleached). FT caused a slight increase in KHN values when compared with the negative control, while statistically differing from the SAN and PA groups, which increased in microhardness. However, these groups did not differ from the active control group (PN). The highest microhardness values were found in the NM group, which showed statistically different values when compared to the positive and negative controls and experimental groups.

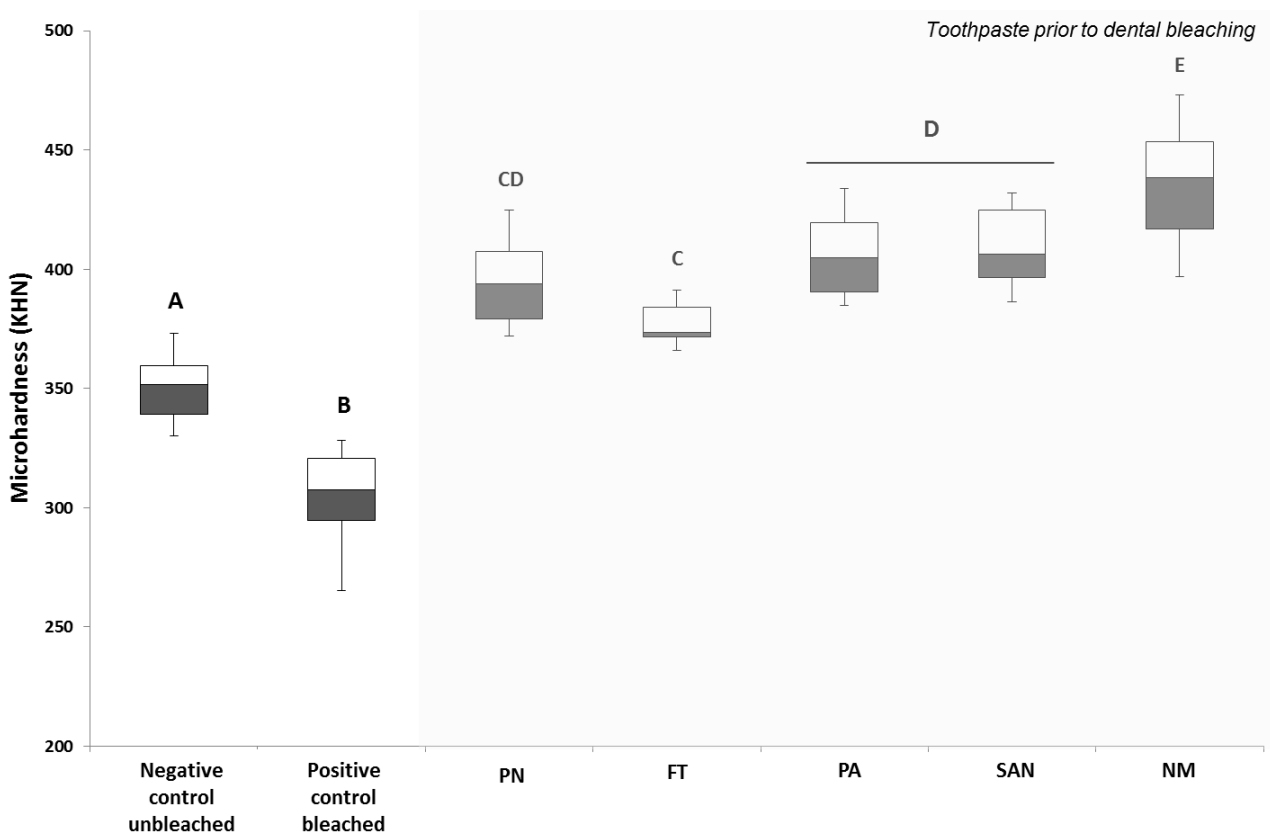


Figure 1. Post-bleaching KHN values according to the treatment group (n=10). Negative control, unbleached; Positive control, bleaching with 35 % hydrogen peroxide (HP). Toothpastes prior to HP: PN, potassium nitrate (with NaF); FT, MFP fluoridated; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Different letters differ statically ($p < 0.05$).

The results of CSMH (Figure 2) showed that bleaching reduces the microhardness in the positive control up to a depth of 100 μm ; this depth was not statistically different between all groups ($p > 0.05$). There were no statistically significant differences between the toothpaste groups and the negative control at all depths ($p > 0.05$). All toothpaste groups presented improved CSMH values when compared with the positive control at 10 μm , while only the FT, SAN and NM groups were statically different from the positive control at depths of 25 and 50 μm ($p < 0.05$). Finally, no experimental group differed from the positive or negative controls at depths of 75 and 100 μm .

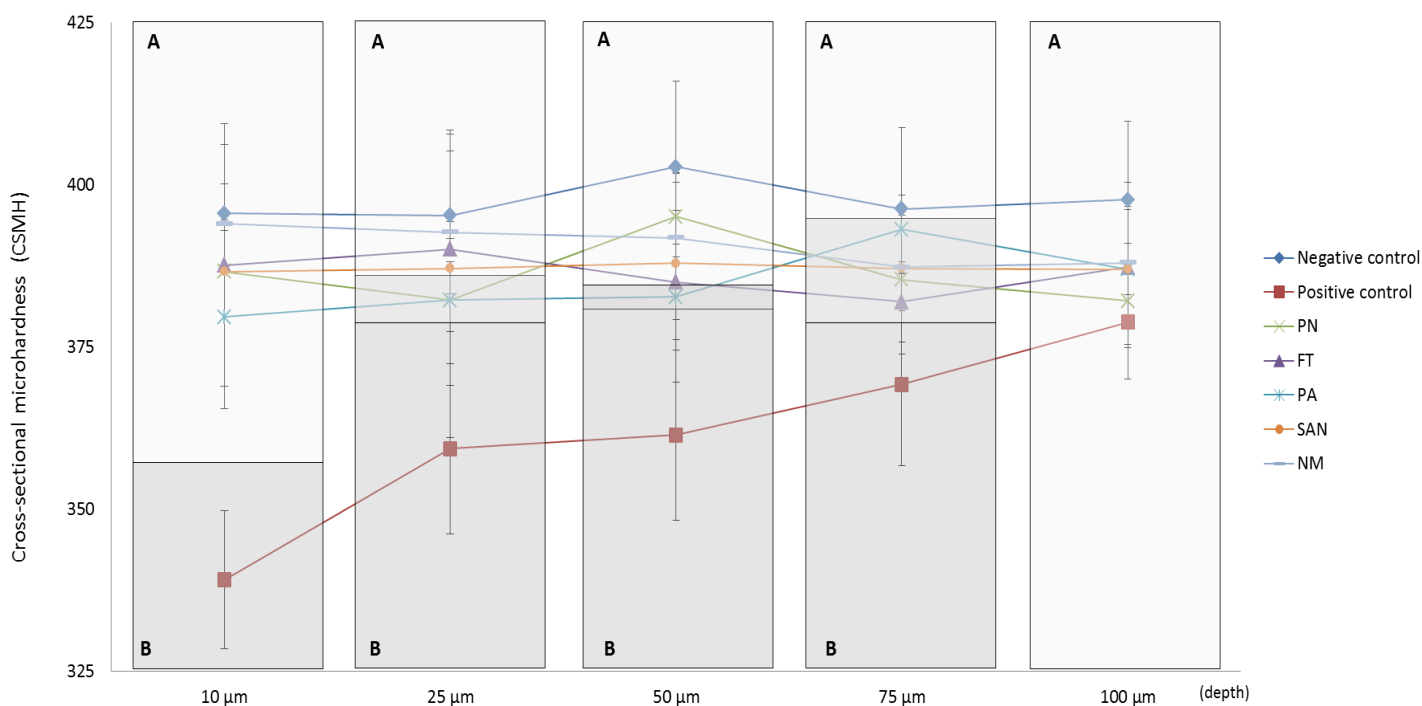


Figure 2. Post-bleaching cross-sectional microhardness values according to the treatment group (n=10).

Negative control, unbleached; Positive control, bleaching with 35 % hydrogen peroxide (HP). Toothpastes prior to HP: PN, potassium nitrate (with NaF); FT, MFP fluoridated; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Different letters differ statically ($p < 0.05$). Intersection zone ($p > 0.05$)

DISCUSSION

The null hypothesis tested in this study was partially accepted because the bioactive glass based toothpaste protected the enamel against the deleterious effects of hydrogen peroxide and no toothpaste affected the effectiveness of bleaching. In the present study, enamel blocks were obtained from bovine teeth. These specimens were used because their physical and chemical properties are very similar to those of human teeth²⁷ and young bovine teeth are considered a practicable model for evaluating bleaching procedures.²⁸

The effect of remineralization agents has been confirmed in previous investigations.²⁹⁻³² Fluoridation regimens with toothpaste or gel application have been shown to be effective in increasing the enamel microhardness and preventing microhardness loss during bleaching.²⁹ Additionally, after the

application of concentrated fluoride,³⁰ a complete remineralization of bleached enamel can occur and enamel properties can be completely reversed.¹⁶ Other studies have shown a similar beneficial effect for products with Proargin³¹ or bioactive glass – Novamin³² when used in conjunction with dental bleaching. Nevertheless, there are no studies that have evaluated the effects of different toothpastes prior to bleaching.

This study proposed the use of an active control with NaF (PN), since it has been proven with *in vitro* results³³, which is important because fluoride is currently used as a remineralizing agent.³⁴ Also, the MFP toothpaste acts as a non-active control of arginine-based toothpastes (PA and SAN) and toothpastes containing bioactive glass (NM), because the sodium monofluorophosphate requires enzymatic hydrolysis to release free fluoride;³⁵ therefore, minimal effects have been described with *in vitro* studies. This current study model provides the investigation of non-fluoride remineralization systems (PA, SAN and NM) and a comparison with an efficient fluoridating agent (PN). Additionally, the fluoride concentration analysis (Table 2) showed that the actual fluoride present in the studied toothpastes was very similar to what was declared by the manufacturers. However, the MFP toothpaste has a small amount of free fluoride that acts on the enamel surface, which explains the small increase in SMH found in the current study when comparing the FT group with the control groups.

From the results of the SMH and CSMH evaluations, bleaching with 35% HP led to a significant decrease in enamel superficial and cross sectional microhardness (with the exception of the depth of 100 μm) without prior application of toothpaste. This decrease in microhardness is possible due to the acidity of the bleaching gel. The lower pH of the bleaching agent may jeopardize the enamel, causing demineralization.³⁶ This finding is in accordance with a number of previous studies³⁷⁻³⁹ that demonstrated a decrease in microhardness during dental bleaching. In the current study, the toothpaste treatment of bleached surfaces prevented a reduction in microhardness, with an observed increase in SMH, indicating an obvious protective effect of NM, arginine-based toothpastes (PA and SAN) or potassium nitrate toothpaste containing NaF, in this order.

When comparing the therapeutic effects of the arginine treatments (SAN and PA) prior to dental bleaching with negative, positive and toothpaste controls, there was an increase in SMH values. Arginine is an aminoacid⁴⁰, with a slightly alkaline pH (Table 2). Based on the mechanism of action proposed by Kleinberg⁴¹, the combination of arginine and calcium carbonate may provide an alkaline environment which encourages endogenous calcium and phosphate ions to precipitate in dental tissues. Therefore, inorganic electrolytes contained in saliva (calcium, phosphate, fluoride) may be important participants in the remineralization/demineralization process, associated with dental bleaching. However, there is previously investigation about the acid solubility of the arginine-carbonate deposits.⁴² When calcium carbonate dissolves slowly, the released calcium is bioavailable to remineralize the tooth and the carbonate dissolution may give a slight rise in the local pH. This process might happen during the bleaching procedures, as the initial pH of the bleaching gel used in the current study is 5.64, which decreased after 15 minutes of application. This decrease to a lower pH is potentially related with enamel demineralization.³⁶ Thus, carbonate dissolution may have mediated less variation of pH in the bleaching gel, decreasing the effects of loss of CSMH and SMH in the SAN and PA groups. Although the arginine-carbonate technology has been reported to be useful as a therapeutic agent when applied after dental bleaching,³¹ more studies are required to investigate the role of the arginine-carbonate complex on the enamel properties associated with this treatment, especially *in situ* and *in vivo* studies.

A previous study suggests that the NM particles react with the enamel surface to increase the concentration of Ca and P ions, resulting in the repair of the demineralized surface.³² It is important to note that NM is regarded as a highly biocompatible material and that it has the potential to prevent demineralization and increase remineralization.^{43,44} In this current study, it is likely that the bioavailable NM on enamel surface after toothbrushing reacted with saliva to release calcium (Ca^{2+}), phosphate (PO_4^{3-}) and sodium (Na^+) ions.⁴⁵ This process could allow for the deposition of free calcium and phosphate together with non-reacted particles of bioactive glass, which would form a protect layer on the enamel surface. Burweel and others⁴⁴ reported that this precipitate could

result in the formation of carbonate enriched hydroxyapatite, a mineral similar to that found in natural teeth, which might be potentiated with the association of fluoride. This mechanism would explain the higher SMH values or surface roughness results of this treatment group.

According to the results of this present study, the sole use of bleaching agent (positive control) increased the enamel surface roughness, as previously described.^{5,46} One concern remains with regards to the roughness change due to abrasive toothpastes. However, the brushing protocol applied in this current study (one-month – 750 cycles) may be considered minimal when compared with the protocol used for simulating one year of brushing (10000 cycles).²⁵ However, this current study determined that brushing created minimal or no significant abrasive effects, with the only abrasive effects noted in the SAN group. Although the stated composition of the abrasive in toothpastes is similar between groups FT, SAN or PA and NP and NM, the degree of abrasiveness is associated with the size and characteristics of the particles, which can be different in different toothpastes even though they use the same component.⁴⁷ The NM group did not suffer effects from the HP and tooth brushing, which was not different from the unbleached group, indicating that there was less mineral loss possibly due to the protective effect previously described. Regardless of the dental bleaching effects, it may be considered that the level of abrasion or increase in surface roughness are clinically less relevant than other wear processes that could occur in the oral environment.

The application of toothpastes prior to dental bleaching presented an effect on the enamel properties in the present study; however, the toothpastes did not affect the effectiveness of the bleaching treatments, since all bleaching groups demonstrated increasing L* values and decreasing b* values, while also presenting ΔE values that were statically similar to the positive control (only bleached). These results support a safe indication for toothpastes, especially for those that contain potassium nitrate, which was proposed by Haywood and others²⁰ for control of sensitivity during dental bleaching.

It can be concluded that bleaching with 35% hydrogen peroxide resulted in morphological changes and significant loss of microhardness of enamel.

Therefore, toothpaste treatment could decrease these effects to the enamel properties. Among these compounds, arginine-based toothpastes and potassium nitrate toothpaste (with NaF) increased superficial microhardness and did not affect dental bleaching. Furthermore, the toothpaste containing bioactive glass did not provide an increase in surface roughness and promoted an enhancement of the microhardness values when compared to unbleached enamel, demonstrating a potential benefit for bleaching therapy.

CONCLUSION

In summary, the toothpastes showed a potential benefit in reducing the bleaching effects to enamel properties without influencing the effectiveness of bleaching. Specifically, when the bioactive glass based toothpaste was applied before dental bleaching, it promoted a protective effect on the enamel properties.

REFERENCES

1. Kihn, PW (2007) Vital tooth whitening *Dental Clinics of North America* **51(2)** 319-331.
2. Ontiveros, JC and Paravina, RD (2004) Color change of vital teeth exposed to bleaching performed with and without light *Journal of Dentistry* **37(11)** 840-847.
3. Sueliman, M (2004) An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects *Dental Update* **31** 608-616.
4. Li, Y (2011) Safety controversies in tooth bleaching *Dental Clinics of North America* **55(2)** 255-63.
5. Hosoya N, Honda K, Iino F and Arai T (2003) Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching *Journal of Dentistry* **31(8)** 543-548.
6. Camargo SEA, Valera MC, Camargo CHR, Mancini MNG and Menezes MM (2007) Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique *Journal of Endodontics* **33(9)** 1074-1077.

7. Markovic L, Jordan RA, Lakota N, and Gaengler P (2007) Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching *Journal of Endodontics* **33(5)** 607–610.
8. Efeoglu N, Wood D and Efeoglu C (2005) Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel *Journal of Dentistry* **33(7)** 561-567.
9. Al-Salehi SK, Wood DJ and Hatton PV (2007) The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness *Journal of Dentistry* **35(11)** 845-850.
10. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F and Wiegand A (2009) Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review *Dental Materials* **25(2)** 143–157.
11. Burgmaier GM, Schulze IM and Attin T (2002) Fluoride uptake and development of artificial erosions in bleached and fluoridated enamel in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation* **29(9)** 799–804.
12. Jorgensen MG and Carroll WB (2002) Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment *Journal of American Dental Association* **133(8)** 1076–1082.
13. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ and Scully C (2006) Hydrogen peroxide tooth whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues *Brazilian Dental Journal* **200(7)** 371–376.
14. Pretty IA, Brunton P, Aminian A, Davies RM and Ellwood RP (2006) Vital tooth bleaching in dental practice: 3. Biological, dental and legal issues *Dental Update* **33(7)** 422-424, 427-428, 431-432.
15. Matis BA, Cochran MA, Eckert G and Carlson TJ (1998) The efficacy and safety of a 10% carbamide peroxide bleaching gel. *Quintessence International* **29(9)** 555-63.
16. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N and Cardash H (2004) Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin *Journal of Prosthetic Dentistry* **92(4)** 337-342.

17. Bayrak S, Tunc ES, Sonmez IS, Egilmez T, Ozmen B (2009) Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) application on enamel microhardness after bleaching *American Journal of Dentistry* **22(6)** 393–396.
18. Cavalli V, Rodrigues LK, Paes-Leme AF, Soares LE, Martin AA, Berger SB and Giannini M (2011) Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface *Photomedicine and Laser Surgery* **29(5)** 319-325.
19. Kakodkar G, Lavania A and Ataide Ide N (2013) An In vitro SEM Study on the effect of bleaching gel enriched with NovaMin on whitening of teeth and dentinal tubule occlusion. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* **7(12)** 3032-3035.
20. Haywood VB, Cordero R, Wright K, Gendreau L, Rupp R, Kotler M, Littlejohn S, Fabyanski J and Smith S (2005) Brushing with a potassium nitrate dentifrice to reduce bleaching sensitivity *Journal of Clinical Dentistry* **16(1)** 17-22.
21. Du MQ, Bian Z, Jiang H, Greenspan DC, Burwell AK, Zhong J and Tai BJ (2008) Clinical evaluation of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate (NovaMin) for the treatment of dentin hypersensitivity *American Journal of Dentistry* **21(4)** 210-221.
22. Docimo R, Perugia C, Bartolino M, Maturo P, Montesani L, Zhang YP, DeVizio W, Mateo LR and Dibart S (2011) Comparative evaluation of the efficacy of three commercially available toothpastes on dentin hypersensitivity reduction: an eight-week clinical study *Journal of Clinical Dentistry* **22(4)** 121-127.
23. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA (2008) pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization *Brazilian Dental Journal* **19(1)** 21-27.
24. Lima DANL, Silva AL, Aguiar FHB, Liporoni PCS, Munin E, Ambrosano GMB, Lovadino JR (2008) In vitro assessment of the effectiveness of whitening dentifrices for the removal of extrinsic tooth stains *Brazilian Oral Research* **22(2)** 106-11.

25. Turssi CP, Faraoni JJ, Rodrigues Jr AL, Serra MC (2004) An in situ investigation into the abrasion of eroded dental hard tissues by a whitening dentifrice *Caries Research* **38(5)** 473-477.
26. Cury JA, Oliveira MJL, Martins CC, Tenuta LM, Paiva SM (2010) Available fluoride in toothpastes used by Brazilian children *Brazilian Dental Journal* **21(5)** 396-400.
27. Mellberg JR (1992) Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ *Journal of Dental Research* **71** 913-919.
28. Wiegand A, Vollmer D, Foitzik M, Attin R and Attin T (2005) Efficacy of different whitening modalities on bovine enamel and dentin *Clinical Oral Investigations* **9(2)** 91–97.
29. Wiegand, A, Schreier, M and Attin, T (2007) Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel *Operative Dentistry* **32(6)** 610–615.
30. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M & Hellwig E (1997) Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel *Journal of Oral Rehabilitation* **24(4)** 282-286.
31. Yesilyurt C, Sezer U, Ayar MK, Alp CK and Tasdemir T (2013) The effect of a new calcium-based agent, Pro-Argin, on the microhardness of bleached enamel surface *Australian Dental Journal* **58(2)** 207-212.
32. Gjorgjevska E & Nicholson JW (2011) Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste *Australian Dental Journal* **56(2)** 193–200.
33. Bowen, WH (1995) The role of fluoride toothpastes in prevention of dental caries *Journal of the Royal Society of Medicine* **88(9)** 505-507.
34. Amaechi BT & van Loveren C (2013) Fluorides and non-fluoride remineralization systems *Monographs in oral science* **23** 15-26.
35. Pearce EI and Dibdin GH (1995) The diffusion and enzymic hydrolysis of monofluorophosphate in dental plaque *Journal of Dental Research* **74(2)** 691-697.

36. Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T and Wang Y (2011) Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide *Journal of Dentistry* **39(10)** 686-692.
37. White D, Kozak K, Zoladz J, Duschner H and Gotz H (2002) Peroxide interactions with hard tissues: effects on surface hardness and surface/subsurface ultrastructural properties *Compendium of Continuing Education in Dentistry* **23(1A)** 42–48.
38. de Oliveira R, Paes Leme AF and Giannini M (2005) Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness *Brazilian Dental Journal* **16(2)** 103–106.
39. Attin T, Mueller T, Patyk A, Lennon A (2004) Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel *Operative Dentistry* **29(2)** 188–195.
40. Zaloga GP, Siddiqui R, Terry C and Marik PE (2004) Arginine: mediator or modulator of sepsis? *Nutrition in Clinical Practice* **19(3)** 201-215.
41. Kleinberg I (2002) Sensistat. A new saliva-based composition for simple and effective treatment of dentinal sensitivity pain *Dentistry Today* **21(12)** 42-47.
42. Parkinson CR and Willson RJ (2011) A comparative in vitro study investigating the occlusion and mineralization properties of commercial toothpastes in a four-day dentin disc model *Journal of Clinical Dentistry* **22(3)** 74-81.
43. Wefel JS (2011) NovaMin: likely clinical success *Advances in Dental Research* **21(1)** 40-3
44. Burwell AK, Litkowski LJ and Greenspan DC (2009) Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential *Advances in Dental Research* **21(1)** 35-9.
45. Deng M, Wen HL, Dong XL, Li F, Xu X, Li H, Li JY and Zhou XD (2013) Effects of 45S5 bioglass on surface properties of dental enamel subjected to 35% hydrogen peroxide *International Journal of Oral Science* **5(2)** 103-110.

46. Martin JM, de Almeida JB, Rosa EA, Soares P, Torno V, Rached RN, and Mazur RF (2010) Effect of fluoride therapies on the surface roughness of human enamel exposed to bleaching agents *Quintessence International* **41(1)** 71–78
47. Pascaretti-Grizon F, Mabilieu G and Chappard D (2013) Abrasion of 6 dentifrices measured by vertical scanning interference microscopy *Journal of Applied Oral Science* **21(5)** 475-481.

Effect of toothpaste application prior to *in office* bleaching on enamel mineral content and surface morphology

ABSTRACT

Purpose: To investigate the effect of toothpastes application prior to dental bleaching with 35% hydrogen peroxide (HP) on mineral content and morphology surface. **Methods:** 70 enamel blocks (4x4x2 mm) were submitted to *in vitro* treatment protocols in tooth-brushing machine prior to dental bleaching or placebo procedure (n=10), groups: Unbleached control (PLA), bleached control (HP), Toothpaste prior: Potassium nitrate toothpaste containing NaF (PN), MFP fluoride toothpaste (FT), arginine-carbonate (8% arginine) toothpaste (PA), arginine-carbonate (1.5% arginine) toothpaste (SAN) and toothpaste containing bioactive glass (NM). Phosphorus in gel ([P]) was evaluated and the elemental levels (%) of Ca, Na, P and proportion between Ca/P were determined by Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDS) and morphology surface by Scanning Electron Microscopy (SEM). The data were subjected to ANOVA and Tukey's test post hoc (p<0.05). **Results:** Dental bleaching (HP) increased the [P] loss; however only NM application prior to HP did not differ of PLA. EDS analysis showed that bleached control (HP) decreased the %Ca values differing from PLA, the %P was increased in bleaching group; however the PA did not differ to PLA. SEM analysis presented a decrease of demineralization effect in groups submitted to toothpaste application prior to bleaching, nevertheless HP and FT demonstrated morphology alteration. **Conclusion:** Dental bleaching increased [P] and calcium loss compared to unbleached enamel, however different toothpastes presented protect effects on the surface morphology and mineral content of enamel, especially the toothpaste containing bioactive glass that resulted in an enamel surface bleached and [P] loss similar to the enamel unbleached.

Keywords: Toothpastes, tooth bleaching, spectroscopy, arginine, bioactive glass.

INTRODUCTION

Whitening treatment has become a popular procedure between patients who seek for improvements in the color appearance of their teeth. Currently, dental bleaching procedures are based on hydrogen peroxide (HP) as active agent, mainly the *in office* bleaching procedure.¹ Although its mechanism in the whitening process is not totally understood, it was suggested that, when in contact with dental tissues, there are an oxidation reaction and the HP releases free radicals, hydroxyl anions and reactive oxygen molecules,² which attacks the organic pigmented molecules, resulting in smaller, less heavily pigmented constituent that absorbs less light in dentine³ and teeth appears whiter. With careful diagnosis and appropriate attention to procedure, dental bleaching can be considered a conservative and safe approach to treatment of discolored teeth.⁴

Dental bleaching may cause structural changes on tooth surfaces, as in their morphology as in their physical properties. Some studies have demonstrated surface alterations in the enamel following exposure to hydrogen peroxide based gels, suggesting that the procedure results in mineral loss that may be related to changes in surface microhardness, roughness and mineral content of enamel.⁵⁻⁸ Calcium and phosphate ions are the main constituents of hydroxyapatite crystal, and their concentration are largely affected by dissolution process, as occurs in the demineralization event. Nevertheless, few studies had chemically assessed the concentration of these ions after tooth bleaching.^{8,9} Mainly in relation to the phosphorus, it is unknown how the bleaching procedure can change its concentration on hydroxyapatite content of enamel. Besides, tooth dissolution may result in defects and porosity on the enamel surface visualized under microscopic evaluation.^{7, 10}

In this way, saliva or remineralizing agents play an essential rule in maintaining or creating an active environment to hamper demineralization or to promote mineral recovery on teeth surface subsequently the bleaching treatment.^{11, 12} Nowadays, a commercial bioactive glass based toothpaste that has been used for increasing enamel remineralization¹³ and it is indicated for dentin hypersensitivity treatment.¹⁴ This principle was originally developed as bone

regeneration material showing beneficial effects when incorporated in the bleaching gel or when used before or after dental bleaching.¹⁵ On the other hand, the arginine-carbonate based toothpaste has been commercially available for caries control and hypersensitivity treatment. However, only few studies in the literature discussed their effect to prevent erosive surface loss¹⁶ and their interaction with dental bleaching treatment.¹⁷ Therefore, the use of toothpastes as a therapy of enamel surface previously the dental bleaching has been rarely assessed.

The aim of this study was to evaluate the potential effect of different toothpaste formulations prior to dental bleaching on enamel surface morphology and mineral content.

MATERIAL AND METHODS

The study design is described in Figure 1.

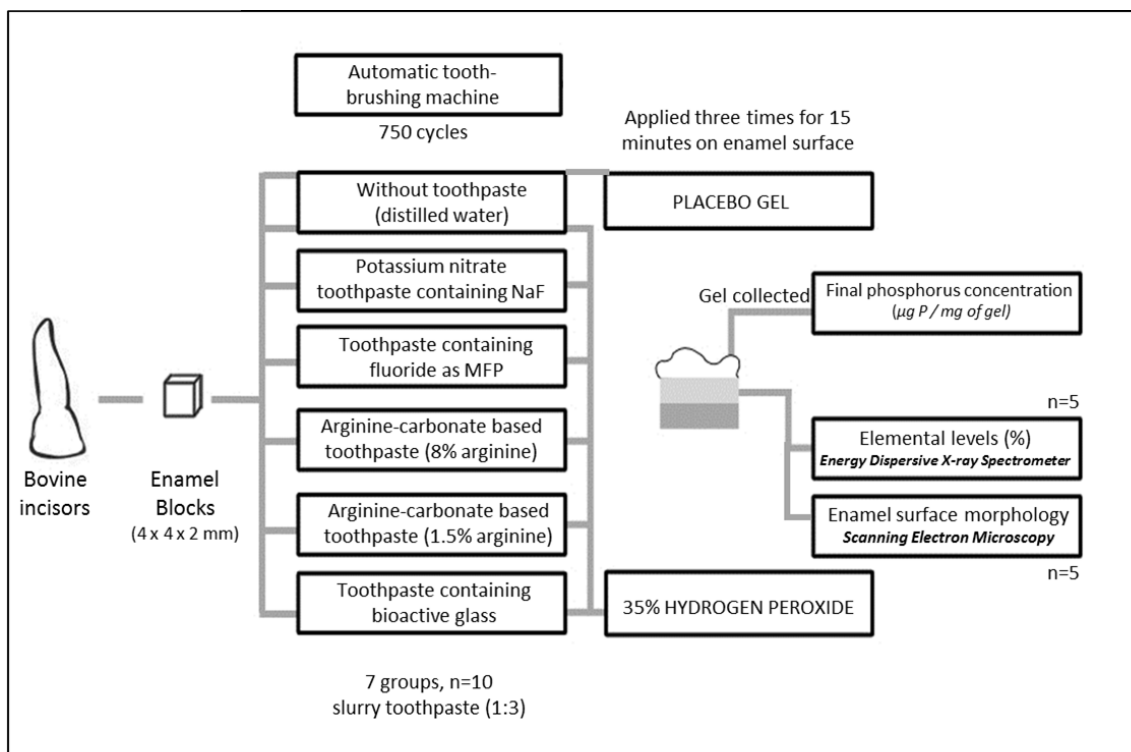


Figure 1. Study design.

Sample preparation

Freshly extracted and intact young bovine incisors were selected and stored in 0.1% thymol solution until required. Seventy enamel-dentin blocks with 16 mm² and 2 mm in height (1 mm of enamel and 1 mm of dentin) were prepared from the buccal surface of the tooth using a high-concentration diamond disc (4" × 012 × ½, Buehler, Illinois, USA) coupled with a precision (Isomet 1000; Buehler, Illinois, USA). Sectioned blocks were minimally grounded on a water-cooled mechanical grinder with 600-, 1000-, and 2000- grit SiC papers (Buehler, Lake Bluff, IL) and polished with cloths and diamond spray (1 µm, 0.5 µm, 0.25 µm - Buehler, Lake Bluff, IL). The specimens were immersed in deionized water, placed in an ultrasonic bath for 10 minutes between and after polishing procedure to obtain standardized enamel surface. All blocks surfaces, excluding the enamel surface, were protected with acid resistant varnish (Risqué, Taboão da Serra, SP, Brazil). Before 24 hours and during the study, all prepared samples were stored in artificial saliva, which was renewed every day in a 37°C incubator. The artificial saliva used, contained a known concentration 1.5 mM Ca, 0.9 mM Pi, 150 mM KCL, 0.05 µg F/mL, 0.1 M Tris buffer, pH 7.0.¹⁸

Toothpaste treatment

Samples were submitted to linear brushing movements using toothbrush heads (Oral-B Indicator 40 Soft, Gillette do Brasil Ltda., Manaus, AM, Brazil) coupled to an automatic tooth-brushing machine (Equilabor, Piracicaba, SP, Brazil), below static axial load of 200g with a speed of 5 movements/second, at 37 °C.¹⁸ This brushing was performed with respective toothpaste/distilled water solution (1:3) slurry or distilled water.¹⁹ The composition of each toothpaste, groups of study and bleaching agents are listed in Table 1. It was applied 750 cycles which correspond to one month of toothbrushing¹⁹. After each brushing treatment, the blocks were washed with distilled water (10 seconds) and stored in artificial saliva for 24 hours prior to dental bleaching procedure.

Table 1. Toothpaste and dental bleaching information used in this study*.

Experimental groups	Toothpaste	Bleaching	Manufacturer	Composition
Unbleached control (PLA)	Without toothpaste (distilled water)	Placebo gel	Proderma, Piracicaba, SP, Brazil	Water, neutralized carbopol, glycerin and triethanolamine, buffered in pH 6.0.
Bleached control (HP)	Without toothpaste (distilled water)	35% HP (three times for 15 minutes each appliance)	Whiteness HP, FGM, Joinville–SC, Brazil	35 % Peroxide hydrogen, thickener (carbopol), glycol and aqua.
Potassium nitrate toothpaste containing NaF (PN)	Sensodyne™ Fresh Impact	35% HP	GlaxoSmithKline Brasil Ltda, Rio de Janeiro, Brazil	5% potassium nitrate, Sodium fluoride (NaF) 1426 ppm, water, hydrated silica, sorbitol, glycerin, cocamidopropyl betaine, xanthan gum, titanium dioxide, sodium sacharin, sucralose, mentha piperita, d-limonene
MFP fluoride toothpaste (FT)	Colgate™ Maximum Cavity Protection	35% HP	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brazil	Sodium Monofluorophosphate (MFP) 1450 ppm, water, calcium carbonate, glycerin, sodium lauryl sulfate, cellulose gum, tetrasodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, benzyl alcohol, sodium saccharin, sodium hydroxide
Arginine-carbonate based toothpaste (8% arginine) (PA)	Colgate™ Sensitive Pro relief Pro-Argin™	35% HP	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brazil	8% arginine, MFP 1450 ppm, water, calcium carbonate, sorbitol, arginine bicarbonate, sodium lauryl sulfate, cellulose gum, titanium dioxide, tetrasodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, benzyl alcohol, sodium saccharin, xanthan gum, limonene
Arginine-carbonate based toothpaste (1.5% arginine) (SAN)	Colgate™ Maximum Cavity Protection PLUS Sugar Acid Neutralizer™	35% HP	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brazil	1.5% arginine, MFP 1450 ppm, water, calcium carbonate, glycerin, arginine bicarbonate, sodium lauryl sulfate, cellulose gum, titanium dioxide, tetrasodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, benzyl alcohol, sodium saccharin, sodium hydroxide
Toothpaste containing bioactive glass (NM)	Sensodyne™ Repair & Protect Novamin™	35% HP	SmithKline Beecham Consumer Healthcare, Berkshire, United Kingdom	5% calcium sodium phosphosilicate, MFP 1426 ppm, glycerin, silica, PEG-8, titanium dioxide, carbomer, cocamidopropyl betaine, sodium methyl cocoyl taurate, sodium saccharin, d-limonene

*In the table 1, gray color is relating to the gels composition and white color shows composition of toothpastes HP: hydrogen peroxide. * According to manufacturer's instructions.

Bleaching treatment and gel rising water

The 35% HP gel (Whiteness HP, FGM, Joinville, SC, Brazil) was applied in the exposed enamel area following the manufacturer's indication. The composition of gels are described in Table 1, being the initial and final pH of bleaching agent measured in triplicate (means: initial pH= 5.64; after 15 minutes: 4.87) and of placebo gel (buffered in pH 6.0) using a pH meter (Procyon, São Paulo, Brazil). In groups, the bleaching or placebo gel was applied three times for

15 minutes on the enamel surface. Each application was performed with individual content of gel measured using analytical balance (Shimadzu AUW 220 d, Kyoto, Japan), after this procedure, the specimens were placed in 0.5 mL of deionized water (gel rising water) in closed bottles and submerged to ultrasonic bath for 30 seconds (Marconi, Piracicaba, São Paulo, SP, Brazil) and after that, the specimens were submitted to 1 minute of vigorous stirring (technique modified from that described by Cavalli and others).⁹ In this solution, it was analyzed the phosphorus concentration relative to the weight of the bleaching or placebo gel used in each specimen. In addition, the phosphorus concentration of gels at baseline was obtained by diluting the freshly gel, in order to evaluate the variation of phosphorus concentration during bleaching procedure. The phosphorus quantification for each sample proposed in this study was calculated from the formula:

$$\text{Final phosphorus concentration [P]} = \sum_{\substack{\text{three} \\ \text{applications}}} (\text{Final [P] in gel applied on enamel surface} - \text{Initial [P] of freshly gel})$$

(P μg / mg of gel)

Phosphorus ion measurement

Phosphorus (P) concentration was determined using an absorbance spectrophotometer (DU 800, Beckman Coulter, CA, USA), on the average absorbance time and performed at 660 nm, calibrated with standards from 0 to 24 P μg / mL. The gel rising water was analyzed using the method described by Fiske & Subarrow,²⁰ however it was slight modified. In a previous pilot study, it was planned the addition of phosphorous standard (6 μg of P) in water rising gel and use of control (6 μg of P + distilled water) for evaluation of variation of phosphorus concentration between the specimens of the same group. This colorimetric method is critical in the analysis of colorful solutions; therefore in this study the evaluated gels were colorless.

Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDS)

Five samples for group were randomly selected. For EDS analysis, the samples were submitted to sputtering under vacuum (Delton vacuum Desk II, Moorestown, NJ, USA), for specimen covered with a fine carbon layer.

Quantitative EDS point analysis (Vantage, Aquisition Engine Company, Tokyo, Japan) was performed on the enamel surface to investigate the elemental presence of sodium (Na), magnesium (Mg), aluminum (Al), silicon (Si), phosphorus (P), chlorine (CL), oxygen (O) and calcium (Ca). Besides, within features of this semiquantitative methodology the elemental levels (%) of Ca, Na, P and proportion between Ca/P were determined. For each sample, five points were selected ($300 \mu\text{m}^2$ for each point) and the mean values calculated.

Scanning Electron Microscopy (SEM)

For SEM analysis, other five specimens of each group were randomly selected and subjected to vacuum in a sputter (Balzers – SCD 050 sputter coter, Germany) by the deposit of a thin layer of gold, equivalent to 10^{-6} mm, in order to increase the surface reflectance. Then, photomicrographs (4000x) of representative areas of the specimens under a SEM (JEOL.JSM 5600LV, Tokyo, Japan) were obtained.

Statistical analysis

The data of phosphorus concentration and elemental levels (%) of Ca, Na, P and proportion between Ca/P were statistically analyzed using the SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The normal distribution of the values was verified and a parametric analysis was performed. The data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test for multiple comparisons ($p < 0.05$).

RESULTS

Based on phosphorus concentration [P] analysis in gel (Figure 2), the results show that dental bleaching (HP – bleached control) increased the phosphorus loss ($p < 0.001$) compared to the unbleached control (PLA). Furthermore, all toothpaste application prior dental bleaching decreased the [P] loss differing statically of bleached control (HP), however only NM group did not differ of placebo group ($p > 0.05$).

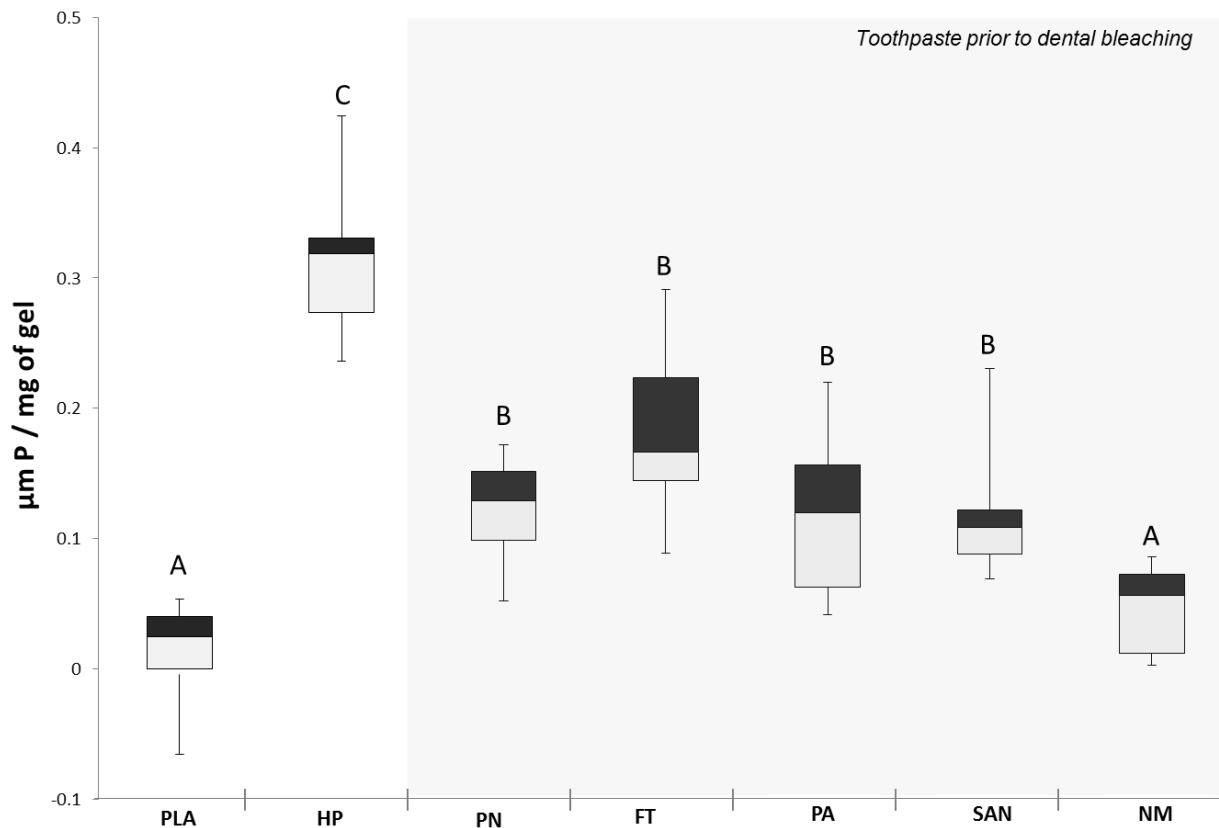


Figure 2. Box-plot of Phosphorus concentration in the gel.

PLA, Placebo, unbleached control; HP, 35 % hydrogen peroxide; Toothpaste prior to dental bleaching based in: NP, potassium nitrate and NaF; FT, MFP fluoride; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Different letters indicate significant differences among groups.

The elemental levels (%) of Ca, P and proportion between Ca/P are presented in Table 3. The bleached control (HP) decreased the % Ca values ($p < 0.001$) differing from PLA group, although the application of toothpaste based bioactive glass (NM) and 1.5% arginine (SAN) did not differ from PLA group ($p < 0.05$), and also did not statically differ of HP group. The PA group presented intermediary % Ca values, being statically similar to HP control group. The smallest values of % Ca was presented in PN group that differed of all others groups ($p < 0.01$). In addition, in comparison between controls groups (PLA and HP), the phosphorus level was increased in bleaching group ($p < 0.01$). The PA and NM groups did not differ from the unbleached control group, therefore, only PA differed statically from bleached control group ($p < 0.05$). The increasing of % P values was observed in PN and SAN group with statically difference between

other experimental groups, with exception of FT group ($p>0.05$). From this perspective, the proportion between % Ca and P demonstrated that bleaching procedure (HP) decreased this value in comparison to PLA. PLA obtained 1.95 (Ca/P) statistically similar ($p>0.05$) to PA and NM groups, nevertheless all groups, with exception of PA group, did not differ from HP group ($p>0.05$).

Considering the representative EDS graphics presented in Figure 3, the PA, SAN and NM groups demonstrated the presence of Sodium element (Na – Note the red sets), therefore it was only quantified (% element) by specific software in PA (mean = 0.54, standard deviation = 0.12) and NM (mean = 0.64, standard deviation = 0.03).

Table 3. Mean (standard deviation) for EDS analysis of enamel surface according to the treatment group (n=5).

	Calcium (Ca) (%)	Phosphorus (P) (%)	Ca/P
PLA	65.52 (0.15) ^A	33.68 (0.11) ^C	1.95 (0.01) ^A
HP	65.03 (0.07) ^B	34.10 (0.11) ^{AB}	1.91 (0.01) ^{BC}
PN	64.61 (0.14) ^C	34.31 (0.10) ^A	1.88 (0.01) ^B
FT	65.07 (0.19) ^B	34.06 (0.23) ^{AB}	1.91 (0.01) ^{BC}
PA	65.09 (0.26) ^B	33.59 (0.27) ^C	1.94 (0.01) ^A
SAN	65.19 (0.22) ^{AB}	34.17 (0.21) ^A	1.91 (0.02) ^{BC}
NM	65.13 (0.25) ^{AB}	33.73 (0.15) ^{BC}	1.93 (0.01) ^{AB}

PLA, Placebo, unbleached control; HP, 35 % hydrogen peroxide; Toothpaste prior to dental bleaching based in: NP, potassium nitrate and NaF; FT, MFP fluoride; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Identical letters indicate no significant difference ($p> 0.05$) among different groups (vertical).

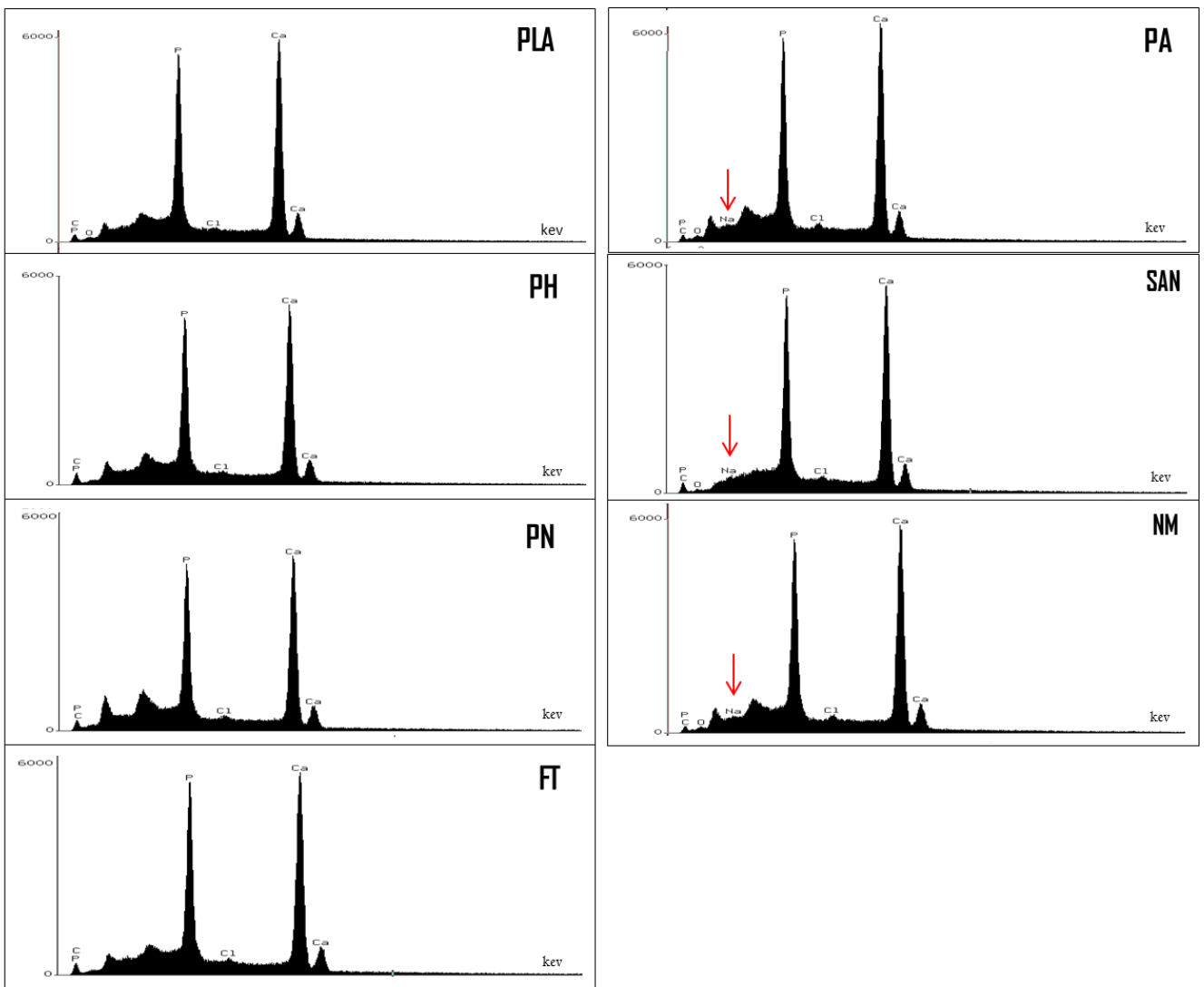


Figure 3. Representative EDS graphics. PLA, Placebo, unbleached control; HP, 35 % hydrogen peroxide; Toothpaste prior to dental bleaching based in: PN, potassium nitrate and NaF; FT, MFP fluoride; PA, 8% arginine; SAN, 1.5% arginine; NM, bioactive glass. Arrows indicate Sodium (Na) presence in PA, SAN and NM groups.

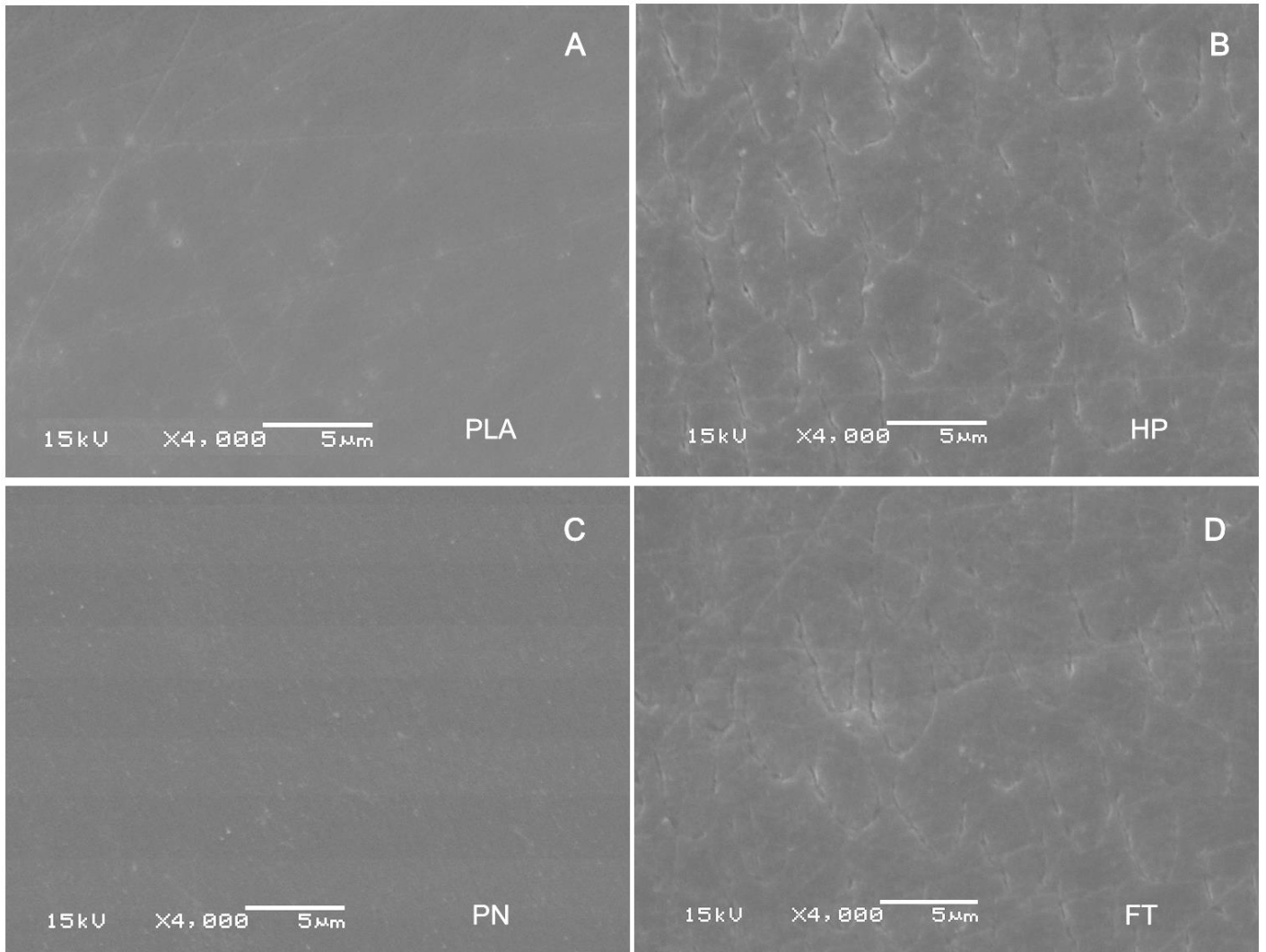


Figure 4. Representative SEM photomicrographs (X 4000) of the specimens from the treatment groups: A) Placebo (PLA), B) Only bleached (HP), C) Potassium nitrate toothpaste containing NaF (PN) and D) MFP fluoridated toothpaste (FT).

SEM photomicrographs collected (Figure 4 and 5) presented the decrease of demineralization effect in groups submitted the toothpaste application prior to HP. Superficial alterations were found in HP (Figure 4B) and FT group (Figure 4D) that showed different levels of enamel demineralization with loss of interprismatic substance and porosity. Figure 5D shows the retained mineral particles on enamel surfaces treated with NM, being that the treatment of enamel

surfaces prior to bleaching results in a surface recovering with a disorderly precipitate, which was not solubilized by whitening procedure.

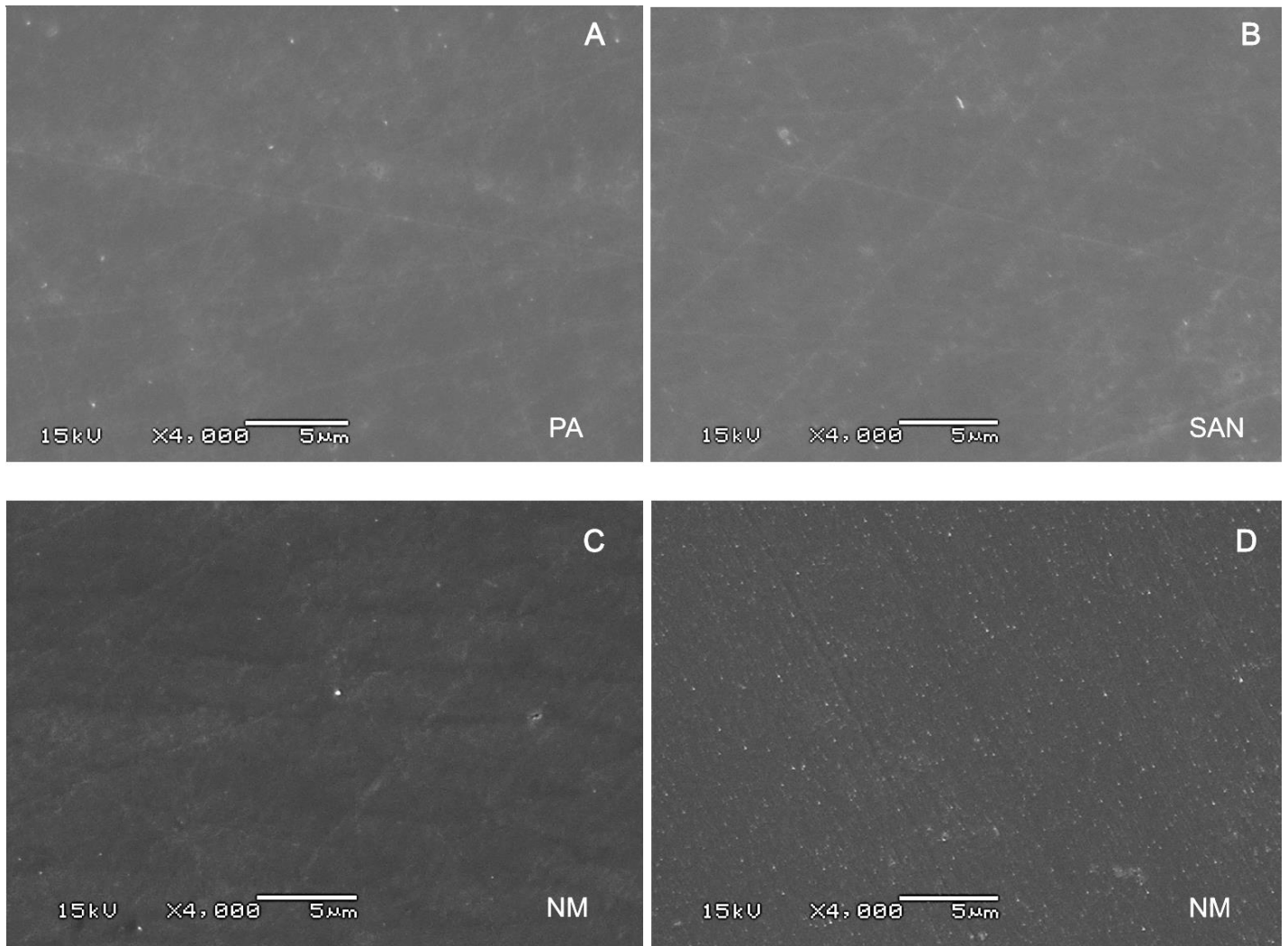


Figure 5. Representative SEM photomicrographs (X 4000) of the specimens from the experimental group: A) 8% Arginine-carbonate based toothpaste (PA), B) 1.5% Arginine-carbonate based toothpaste (SAN), C) Toothpaste containing bioactive glass (NM) and D) Presence of mineral precipitates found in NM group.

DISCUSSION

Dental enamel is the hardest mineralized biological tissue containing approximately 96% mineral, 3% water and 1% organic matter by weigh and this

principal inorganic constituent of enamel is hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, which tends to incorporate a number of trace elements. In this study, it was used bovine teeth because the chemical and physical morphology of bovine enamel resemble those of human enamel.²¹ Within this context, the mineral loss is associated with the release of calcium and phosphorus ions from hydroxyapatite crystal dissolution, promoting decreasing of enamel properties in dental bleaching.²²

Regarding the toothpastes studied, the remineralization process is a slow precipitation process of mineral constituents into hard dental tissues,²³ that possibly could bring benefits to whitening therapy. The relationship between remineralization systems and dental bleaching is controversy, and few controlled studies evaluate the effects of enamel previously submitted to toothpaste treatment, principally considering that the use of toothpaste by the patient is inevitable and trivial. In the present study, the focus was the potentially effect of toothpaste application prior to dental bleaching, through evaluation of enamel morphology and mineral content, especially the phosphorus quantification. It was suggested the use of MFP toothpaste (FT) because the sodium monofluorophosphate requires enzymatic hydrolysis to release free fluoride,²⁴ however as it was used artificial saliva the MFP had a slight effect (*in vitro*), allowing a real comparison of others remineralization systems (PA, SAN and NM), once the fluoride effect was decreased in this model study, with exception of PN group that was proposed with an active control (NaF based toothpaste).

In dental bleaching, the decrease in the calcium or phosphate ratio is generally attributed to free radicals resulting from the oxiredox reaction of hydrogen peroxide, which oxidizes organic molecules in the dental tissues.²⁵ The EDS analysis showed decreasing in % Ca values of bleached control group (HP), however the % P values increased in HP. This was possible due to the unit cell stoichiometry of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, that presents 6 mol phosphate ions required for every 10 mol of calcium and, because of this, with a greater calcium loss, higher the proportions the % P values, but this does not means that the enamel surface incorporates phosphorus ions. This was clearly demonstrated in the

chemical analysis, in which there was an increasing in phosphorus loss (Figure 2).

Enamel effect by the toothpaste containing bioactive glass (NM) occurred due to integration of different elements into the enamel structure, as shown by the representative Energy Dispersive X-ray Spectrometer. Semiquantitative analysis in NM group demonstrated the elemental level (%) of Na (Figure 3, mean=0.64%), and the NM promotes the formation of a hydroxycarbonate apatite¹³ (rich in calcium sodium phosphosilicate) layer on the tooth surface. When bioactive glass is brought into contact with body fluids, there is rapid capitation of Na, Ca and P, creating precipitated minerals able to achieve remineralization of the damaged enamel surfaces²⁶ or decrease the effects of demineralization process. The results of SEM (Figura 5D), associated to the final Sodium presence in EDS analysis and to the low concentration of phosphorus found in gel, demonstrated a decreasing in mineral loss once NM group did not differ to unbleached group (negative control), and maybe, due to the fact that hydroxycarbonete apatite precipitate was not loss by dissolution with the gel application. This finding indicates a beneficial effect in dental bleaching therapy of this principle active that is agreement with a previous study,²⁷ suggesting that the combination of the not-reacted bioactive glass particles and the newly formed hydroxycarbonate apatite layer results in enamel remineralization and prevents further demineralization.

In relation to arginine-containing toothpastes (PA and SAN), the effects on enamel properties in literature are few discussed and, mainly concerning the study design, little is known about its exact mechanism of action. In this purpose, arginine, an aminoacid²⁸ positively charged which in a physiological pH binds to negatively charged dental tissue, and calcium carbonate, that is a source of calcium.²⁹ Moreover, the alkaline environment promoted by toothpaste could control the gel pH for buffering, and this may encourages endogenous calcium and phosphate ions to precipitate themselves under dental tissues.²⁹ In Ca / P proportion and the phosphorus quantification by EDS analysis (Table 3), it was observed that PA group (8% arginine) showed the best situation in relation to the

hydroxyapatite dissolution, because the PA group did not differ between the group unbleached control.

The observed morphological changes on enamel surface (Figure 4 and 5) suggests that the damage effects of dental bleaching may possibly to be reversed by the implementation of toothpastes agents to treat the tooth surface bleaching prior to dental bleaching. Despite of low values in EDS analysis, the PN group presented a flattened enamel surface in SEM analysis, not showing the morphologic alterations resulted from dental bleaching. This may be explained due to a limitation of this EDS methodology that did not quantify fluoride. Probably, in this group, there was the incorporation of fluoride ion (from NaF) on the enamel surface (firmly and loosely bound fluoride), which decreased the values of the other % elements in EDS. This proposition corroborate once the phosphorus analysis, it did not show an increase of phosphorus loss for the PN group. From this statement, it is clearly the need that EDS analysis, as a semiquantitative method, should be applied in conjunction with further methodologies for chemical quantification of enamel after bleaching, as performed in this study.

In accordance with the presented results, there were differences in the potential effects among the different toothpastes used. Specifically, the bioactive glass-containing and arginine toothpastes were highly efficient in lessening bleaching effects. Nevertheless, further research is needed to investigate the performance of the bioactive glass or arginine containing toothpastes in “*in situ*” and in *clinical trials* studies regarding the conjunction of toothpaste and bleaching agents effects on enamel properties.

CONCLUSION

The dental *in office* bleaching procedure increased phosphorus loss and Calcium (%) compared to unbleached enamel, however, in relation to these, different toothpastes promotes beneficial effects on the surface morphology and mineral content of enamel. In this way, the toothpaste containing bioactive glass resulted in an enamel surface bleached similar to the enamel unbleached and so, it could be a suitable therapy to be indicated prior to dental bleaching.

REFERENCES

1. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching - a critical review of the biological aspects. *Critical Reviews in Oral Biology Medicine* 2003; **14(4)**: 292-304.
2. Kashima-Tanaka M, Tsujimoto Y, Kawamoto K, et al. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J Endod* 2003; **29**:141–143.
3. McCaslin AJ, Haywood VB, Potter BJ, et al. Assessing dentin color changes from night-guard vital bleaching. *J Am Dent Assoc* 1999;**130**:1485–1490.
4. Li, Y. Safety controversies in tooth bleaching. *Dent Clin North Am* 2011; **55(2)**: 255-263.
5. Camargo SEA, Valera MC, Camargo CHR, Mancini MNG, Menezes MM. Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique. *Journal of Endodontics* 2007; **33(9)**: 1074-1077.
6. Markovic, L, Jordan, RA, Lakota, N, Gaengler, P. Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching. *J Endod* 2007; **33**, 607–610.
7. Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. *Journal of Dentistry* 2005; **33(7)** 561-567.
8. Al-Salehi SK, Wood DJ, Hatton PV. The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *Journal of Dentistry* 2007; **35(11)**: 845-850.
9. 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* 2010; **41(8)**: 157-165.
10. Souza RO, Lombardo GH, Pereira SM, Zamboni SC, Valera MC, Araujo MA, Ozcan M. Analysis of tooth enamel after excessive bleaching: A study using scanning electron microscopy and energy dispersive x-ray spectroscopy *International Journal of Prosthodontics* 2010; **23(1)**: 29-32.

11. Burgmaier GM., Schulze IM, Attin T. Fluoride uptake and development of artificial erosions in bleached and fluoridated enamel in vitro. J Oral Rehabil 2010; **29**; 799–804
12. Wiegand, A, Schreier, M, Attin, T. Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel. Oper Dent 2007; **32**: 610–615.
13. Burwell AK, Litkowski LJ and Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. Adv Dent Res 2009; **21(1)**: 35-39.
14. Du MQ, Bian Z, Jiang H, Greenspan DC, Burwell AK, Zhong J, Tai BJ. Clinical evaluation of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate (NovaMin) for the treatment of dentin hypersensitivity. Am J Dent 2008; **21**: 210-221.
15. Deng M, Wen HL, Dong XL, Li F, Xu X, Li H, Li JY , Zhou XD. Effects of 45S5 bioglass on surface properties of dental enamel subjected to 35% hydrogen peroxide. Int J Oral Sci 2013; **5(2)**:103-10.
16. Yamashita JM1, Torres NM, Moura-Grec PG, Marsicano JA, Sales-Peres A, Sales-Peres SH. Role of arginine and fluoride in the prevention of eroded enamel: an in vitro model. Aust Dent J 2013; **58(4)**: 478-482.
17. Yesilyurt C, Sezer U, Ayar MK, Alp CK, Tasdemir T. The effect of a new calcium-based agent, Pro-Argin, on the microhardness of bleached enamel surface. Aust Dent J 2013; **58(2)**: 207-212.
18. Lima, DANL; Silva, AL; Aguiar, FHB; Liporoni, PCS; Munin, E; Ambrosano, GMB; Lovadino, JR. In vitro assessment of the effectiveness of whitening dentifrices for the removal of extrinsic tooth stains. Braz Oral Res 2008; **22(2)**: 106-11.
19. 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.
20. Fiske, CH, Subbarow, Y. The calorimetric determination of phosphorus. Journal Biological Chemistry 1925; **66(2)**: 375-400.

21. Wiegand A, Vollmer D, Foitzik M, Attin R, Attin T. Efficacy of different whitening modalities on bovine enamel and dentin. *Clinical Oral Investigations* 2005; **9**: 91–97.
22. Potocnik I, Kosec L, Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *J Endod* 2000; **26**: 203–206.
23. Vollenweider, M, Brunner, TJ, Knecht, S, Grass, RN, Zehnder, M, Imfeld, T, Stark, WJ. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater* 2007; **3**: 936–994
24. Pearce EI, Dibdin GH. The diffusion and enzymic hydrolysis of monofluorophosphate in dental plaque. *J Dent Res* 1995; **74(2)**:691-697.
25. Tezel, H, Ertas, OS, Ozata, F, Dalgar, H, Korkut, ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence Int* 2007; **38** 339–347.
26. Gjorgievska, ES, Nicholson, JW. A preliminary study of enamel remineralization by dentifrices based on Recaldent CPP-ACP and Novamin calcium-sodium-phosphosilicate. *Acta Odontol Latinoam* 2010; **23**: 234–239.
27. Gjorgievska, E, Nicholson, JW. Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. *Aust Dent J* 2011; **56**: 193–200.
28. Zaloga GP, Siddiqui R, Terry C, Marik PE. Arginine: mediator or modulator of sepsis? *Nutr Clin Pract* 2004; **19**: 201-215.
29. Kleinberg I. Sensistat. A new saliva-based composition for simple and effective treatment of dentinal sensitivity pain. *Dent Today* 2002; **21**: 42-47.

CONCLUSÃO

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

1. Quando não associado à terapia prévia com dentifrícios, o clareamento com peróxido de hidrogênio atuou negativamente nas propriedades do esmalte: diminuindo a microdureza superficial e subsuperficial, aumentando a rugosidade superficial, alterando a morfologia de superfície e proporcionando perda de fósforo e cálcio da estrutura do esmalte.
2. Os dentifrícios aplicados previamente não interferiram na efetividade do clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35%, entretanto tiveram efeitos nas propriedades e conteúdo mineral do esmalte, dentre eles:
 - I. O dentifrício contendo vidro bioativo (NovaminTM) aplicado previamente ao clareamento dental demonstrou ter um efeito protetor nas propriedades físicas do esmalte e apresentou perda de fósforo do esmalte para o gel clareador equivalente ao esmalte não clareado. Demonstrando potencial efeito benéfico na terapia clareadora.
 - II. Os dentifrícios contendo arginina diminuíram os efeitos sobre a perda de microdureza que o procedimento clareador pode promover, e especificamente o dentifrício contendo 8% de arginina (Pró ArginTM) obteve resultados benéficos com níveis elementares equiparados ao esmalte não clareado, pela análise de espectroscopia de energia dispersiva por raios-x.

REFERÊNCIAS*

Al-Salehi SK, Wood DJ, Hatton PV. The effect of 24h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. *J Dent*. 2007 Nov;35(11):845-50. Epub 2007 Sep 14.

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

Burwell A, Jennings D, Muscle D, Greenspan DC. NovaMin and dentin hypersensitivity--in vitro evidence of efficacy. *J Clin Dent*. 2010;21(3):66-71

Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. *Adv Dent Res*. 2009;21(1):35-9.

Camargo SEA, Valera MC, Camargo CHR, Mancini MNG, & Menezes MM. Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique *Journal of Endodontics* 33(9) 1074-1077.

Cantore R, Petrou I, Lavender S, Santarpia P, Liu Z, Gittins E, Vandeven M, et al. In situ clinical effects of new dentifrices containing 1.5% arginine and fluoride on enamel de- and remineralization and plaque metabolism. *J Clin Dent*. 2013;24 (Spec Iss A):A32-A44.

*De acordo com a normativa da FOP/Unicamp baseada na norma International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline

D'Amario M, D'Attilio M, Baldi M, De Angelis F, Marzo G, Vadini M, Varvara G, D'Arcangelo C. Histomorphologic alterations of human enamel after repeated applications of a bleaching agent. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012 Oct-Dec;25(4):1021-7.

Deliperi S, Bardwell DN, Papathanasiou A. Clinical evaluation of a combined in-office and take-home bleaching system. *J Am Dent Assoc* 2004;135:628-34.

Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Amin WM, Martinez PP, et al. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *Journal of Dentistry* 2012;40:e25–33.

Efeoglu N, Wood D & Efeoglu C. Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. *Journal of Dentistry* 2005; 33(7) 561-567.

Gjorgievska E, Nicholson JW. Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. *Aust Dent J*. 2011 Jun;56(2):193-200

Gomes MN, Francci C, Medeiros IS, De Godoy Froes Salgado NR, Riehl H, Marasca JM. Effect of light irradiation on tooth whitening: enamel microhardness and color change. *J Esthet Restor Dent*. 2009;21:387–94.

Haywood & Heymann. *NightguardVital Bleaching*. Quintessence Int 1989; 20: 173-6

Haywood VB, Cordero R, Wright K, Gendreau L, Rupp R, Kotler M, Littlejohn S, Fabyanski J, Smith S. Brushing with a potassium nitrate dentrifice to reduce bleaching sensitivity. *J Clin Dent*. 2005; 16(1): 17-22.

Holland GR, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol*. 1997;24:808-13.

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

Hosoya N, Honda K, Iino F & Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching *Journal of Dentistry* 2003; 31(8) 543-548.

Kihn, PW. Vital tooth whitening. *Dent Clin N Am*. 2007; 51: 319-31.

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

Lavender SA, Petrou I, Heu R, Stranick MA, Cummins D, Kilpatrick-Liverman L, et al. Mode of action studies on a new desensitizing dentrifice containing 8.0% arginine, a high cleaning calcium carbonate system and 1450 ppm fluoride. 3rd. *Am J Dent*. 2010 May;23 Spec No A:14A-19A.

Lee K, Kim H, Kim K, Kwon Y. Mineral loss from bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. *Journal of Oral. Rehabilitation* 2006;33:229–33.

Leonard RH. Efficacy, longevity, side effects, and patient perceptions of night guard vital bleaching. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19:766–81.

Li Y. Safety controversies in tooth bleaching. *Dent Clin North Am.* 2011 Apr;55(2):255-63

Markowitz K, Kim S. The role of selected cations in the desensitization of intradental nerves. *Proc Finn Dent Soc* 1992;88 (Suppl 1):39-54.

Markowitz K. The original desensitizers: Strontium and potassium salts. *J Clin Dent* 2009; 20 (Sp 1s):145-151.

Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol.* 2002; 192(1): 1-15.

Matis BA, Cochran MA, Eckert G, Carlson TJ. The efficacy and safety of a 10% carbamide peroxide bleaching gel. *Quintessence Int.* 1998; 29(9): 555-63.

Maung NL, Wohland T, Hsu CY. Enamel diffusion modulated by Er:YAG laser (Part 2). Organic matrix. *J Dent* 2007;35:794-9

Minoux, M; Serfaty, R. Vital tooth bleaching: Biologic adverse effects—A review. *Quintessence Int* 2008; 39:645–659.

Ontiveros, JC; Paravina, RD. Color change of vital teeth exposed to bleaching performed with and without light. *J Dent* 2009 Nov; 37(11):840-7.

Porto IC, Andrade AK, Montes MA. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. *J Oral Sci* 2009;51(3):323-32.

Prettyl A, Brunton P, Aminian A, Davies RM, Ellwood RP. Vital tooth bleaching in dental practice: 3. Biological, dental and legal issues. *Dent Update*. 2006; 33(7): 422-4, 427-8, 431-2.

Sueliman, M. An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects. *Dent Update* 2004; 31: 608-616.

Ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. *Journal of Dental Research* 1995; 74: 374–380

Ubal dini AL, Baesso ML, Medina Neto A, Sato F, Bento AC, Pascotto RC. Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *Journal of Dental Research*, vol. 92, no. 7, pp. 661–665, 2013.

Wang Z, Sa Y, Sauro S, Cen H, Xing W, Ma X, Jiang T, Wang Y. Effect of desensitizing toothpastes on dentinal occlusion. A dentine permeability measurement and SEM in vitro study. *J Dent* 2010;38:400-410.

Wolff M, Corby P, Klaczany G, Santarpia P, Lavender S, Gittins E, et al. In vivo effects of a new dentifrice containing 1.5% arginine and 1450 ppm fluoride on plaque metabolism. *J Clin Dent*. 2013;24 (Spec Iss A):A45-A54

Yesilyurt C, Sezer U, Ayar MK, Alp CK, Tasdemir T. The effect of a new calcium-based agent, Pro-Argin, on the microhardness of bleached enamel surface. *Aust Dent J*. 2013 Jun;58(2):207-12

Ying D, Chuah GK, Hsu CY. Effect of Er:YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. *J Dent* 2004;32:41-6.

Dentifrícios para o tratamento da hipersensibilidade dentinária

Toothpastes for dentine hypersensitivity treatment

Artigo publicado na Revista Dental Press Estética

RESUMO

Introdução: A hipersensibilidade dentinária (HD) é caracterizada como um episódio de dor aguda, localizada e de curta duração, com etiologia complexa e multifatorial, e associada a processos como atrição, erosão e abrasão. A utilização de dentifrícios para controle dela é recomendada principalmente devido à facilidade de uso e baixo custo. Categoricamente, existem duas formas de ação desses dentifrícios: 1) atuação na dessensibilização do nervo com o bloqueio do estímulo doloroso e 2) atuação na oclusão física dos canalículos agindo na causa o que impossibilita a transmissão do estímulo doloroso. **Objetivo:** Discutir as evidências científicas existentes que englobam a indicação, limitação e perspectiva do uso racional desses dentifrícios **Métodos:** Este artigo apresenta uma revisão de literatura sobre as diferentes formulações de dentifrícios para tratamento da hipersensibilidade dentinária, como os dentifrícios a base de sais de potássio e estrôncio, fluoreto de estanho associado ou não a hexametáfosfato e atualmente muito se discute sobre formulações a base de arginina e carbonato de cálcio ou de fosfossilicato de sódio e cálcio, e de seus possíveis efeitos terapêuticos adicionais. **Conclusão:** Dentifrícios são importantes para o tratamento da hipersensibilidade, e atualmente as formulações a base de arginina e carbonato de cálcio ou de fosfossilicato de sódio e cálcio mostram-se como as melhores alternativas, porém outros princípios ativos devem ser indicados de acordo com as subjetividades do quadro de hipersensibilidade do paciente.

Palavras-chave: Dentifrícios. Sensibilidade da dentina. Cremes dentais.

INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária (HD) é caracterizada como uma dor resultante de uma exposição dentinária em resposta a estímulos térmicos, evaporativos, osmóticos, tácteis, ou associados a produtos químicos^{1,2}. Essa exposição de dentina pode ser em consequência da perda do esmalte ou devido a uma recessão gengival (com perda de cemento). A perda de esmalte pode ser associada a processos como a atrição, abrasão e erosão, muitas vezes em associação³.

A teoria hidrodinâmica é a mais aceita hoje para explicar o mecanismo de hipersensibilidade dentinária⁴. A exposição dos túbulos dentinários a estímulos externos como mudanças de temperatura (frio ou quente) e diferenças osmóticas ou de pressão, faz com que o fluido dentinário se desloque no interior dos túbulos, estimulando indiretamente as extremidades dos nervos pulpares e provocando a sensação de dor⁵.

O tratamento para a HD é amplamente discutido, inúmeros protocolos clínicos foram relatados, principalmente quando ocorre uma perda de estrutura dental cervical, nestes casos materiais restauradores² como o ionômero de vidro, o ionômero de vidro reforçado por resina e a resina composta mostram-se como ótimas alternativas, pois proporcionam um bloqueio físico impossibilitando a exposição a estímulos que movimentem os fluídos dentinários, além de diminuir a ação erosiva e abrasiva na cavidade.

Entretanto, para exposições dentinárias não associadas a perda de estrutura dental significativa foram desenvolvidos protocolos terapêuticos, como: 1) cirurgias de recobrimento gengival, 2) aplicação de laser NdYAG, 3) aplicação profissional de agentes dessensibilizantes e 4) indicação do uso de dentifrícios. Dentre esses, os dentifrícios são amplamente indicados, devido ao seu baixo custo, facilidade de uso e aplicação caseira⁶. No Brasil, comercialmente, existem diferentes dentifrícios indicados para o tratamento da HD, representados por diferentes princípios ativos (Tabela 1), porém categoricamente existem duas abordagens principais para prevenção e diminuição da recorrência da HD: 1) a dessensibilização, propriamente dita, que ocorre pela interrupção da resposta

neural aos estímulos dolorosos e 2) a oclusão física dos túbulos dentinários expostos e bloqueio da movimentação hidrodinâmica dos fluídos⁷.

Tabela 1. Princípios ativos e marcas comerciais de diferentes dentifrícios para tratamento da hipersensibilidade do Brasil.

Princípio ativo	Nome comercial	Representante da marca
Acetato de estrôncio	Sensodyne® Rapid Relief	Sensodyne Glaxosmithkline
Arginina e Carbonato de Cálcio (Pró Argin™)	Colgate® Pró-alívio	Colgate-Palmolive Company
Citrato de Potássio	Colgate® Sensitive	Colgate-Palmolive Company
Fluoreto de estanho com Hexametáfosfato de Sódio	Oral B® Pro-saúde Clinical Protection	Procter & Gamble (P&G)
Fosfossilicato de sódio e Cálcio (Novamin™)	Sensodyne® Repair & Protect	Sensodyne Glaxosmithkline
Nitrato de Potássio	Sensodyne® Original Sensodyne® F Sensodyne® Extra Fresh	Sensodyne Glaxosmithkline

DENTIFRÍCIOS DESSENSIBILIZANTES DA RESPOSTA PULPAR:

SAIS DE POTÁSSIO

A dessensibilização através dos sais de potássio ocorre, pois o íon potássio reduz a excitabilidade das fibras nervosas pulpares e seus prolongamentos, e uma concentração acima da fisiológica induz uma despolarização celular o que bloqueia a resposta neural frente ao estímulo doloroso^{8,9}.

Os sais de potássio são os únicos componentes de dentifrícios que possuem a eficácia através do bloqueio da resposta neural⁹, apesar de mais tipicamente ser representado pelo nitrato de potássio (5%), são representantes também o cloreto de potássio (3,75%) e o citrato de potássio (5,5%). Devido à

versatilidade e não interferência de outros compostos na ação dos sais, comumente são adicionados outros componentes como o fluoreto, antibacterianos e abrasivos.

Diversos estudos demonstraram a eficácia terapêutica do nitrato de potássio^{10, 11}, do citrato de potássio^{12, 13} e do cloreto de potássio^{14, 15} para a redução da hipersensibilidade, inclusive na sensibilidade oriunda do clareamento dental¹⁶, em comparação a um controle contendo flúor, esses dentifrícios fluoretados são comumente utilizados como controle, pois isolam a ação do princípio ativo estudado e representam a escovação não associada a agentes dessensibilizantes,. Entretanto, demonstra-se nesses estudos que esse efeito é notado com o uso contínuo após 2 semanas, e com diminuição significativa da dor após 4-8 semanas. Assim, acredita-se que esse tempo seja referente ao percurso que o íon tem que percorrer desde o meio bucal até a polpa e seus prolongamentos odontoblásticos. Essa complicada difusão associada ao efeito gradativo temporal é argumento para parte da comunidade científica que se mostra cética para os benefícios dos sais de potássio¹⁷.

Entretanto, os sais de potássio parecem proporcionar uma melhora gradativa da dor e a interrupção do uso é concomitante com o fim do efeito dessensibilizante. Assim, por não assegurarem um alívio imediato e duradouro, muitas vezes, não deverão ser indicados como escolha inicial para pacientes com quadros agudos de hipersensibilidade.

DENTIFRÍCIOS QUE OCLUEM FISICAMENTE OS TÚBULOS DENTINÁRIOS

Existem basicamente dois mecanismos relevantes para oclusão física dos canalículos e do bloqueio da movimentação hidrodinâmica aplicados nos dentifrícios: 1) deposição de uma fina camada de partículas, assim dentifrícios com estrôncio, estanho e fosfato de cálcio são capazes de formar uma barreira física através de um precipitado sobre a superfície da dentina exposta com túbulos abertos⁷ e 2) indução natural de uma formação mineral *in situ*, representado por novas tecnologias a base de arginina e carbonato de cálcio (Pro-Argin®) ou de fosfossilicato de sódio cálcio (Novamin® – “bioglass”,

“bioactive glass”, “vidro bioativo”) que aderem fisicamente a abertura dos túbulos dentinários a fim de mediar formações minerais ricas em cálcio e fosfato⁷.

ESTRÔNCIO

Indiscutivelmente, o estrôncio foi o primeiro princípio ativo utilizado em um dentifrício para tratamento da HD, inicialmente como cloreto de estrôncio (10%) que devido a sua incompatibilidade com o íon flúor foi substituído comercialmente pelo acetato de estrôncio (8%)⁸. Existem possíveis mecanismos de ação para os sais de estrôncio: 1) devido à semelhança química com o cálcio, o estrôncio poderia, em princípio, substituir o cálcio perdido nos cristais de hidroxiapatita e fortalecer a estrutura dentinária^{18, 19} e 2) depositar uma fina camada para ocluir os túbulos dentinários^{18, 19}, que se apresenta como o mecanismo de ação mais provável²⁰.

A associação sinérgica de acetato de estrôncio com sílica artificial (Sr/Si) in vitro e in situ mostrou-se eficiente na obliteração dos túbulos²⁰⁻²², porém dados clínicos não fornecem evidências conclusivas da eficácia dos sais de estrôncio⁷, não diferindo de dentifrícios controles com flúor regular^{23, 24} ou possuindo ação menor em comparação aos sais de potássio^{25, 26}. Esses achados levam, frequentemente, a não indicação e uso desses dentifrícios atualmente.

FLUORETO DE ESTANHO ADICIONADO OU NÃO A HEXAMETAFOSFATO DE SÓDIO

O fluoreto de estanho (0,454%) foi utilizado inicialmente como fonte de fluoreto, e a partir da década de 1980 os benefícios potenciais para tratamento da hipersensibilidade foram apresentados. A obliteração, inicialmente parcial, dos túbulos ocorre pela precipitação de compostos insolúveis metálicos²⁷, com eficácia comprovada imediatamente²⁸, após 4-8 semanas^{22, 28}, principalmente quando associado ao Hexametáfosfato de Sódio, que além do supracitado indica ter ação protetora contra o processo de erosão ácida²⁹.

Apesar do uso do fluoreto de estanho permear a década de 1960, seus totais benefícios são discutidos ainda hoje, resultados sugeriram suas propriedades antierosivas²⁹, e o princípio ativo atualmente pode ser aplicado não

só em dentifrícios como em géis e enxaguatórios bucais^{30, 31}. Assim, dentifrícios de fluoreto de estanho principalmente adicionado ao hexametáfosfato de sódio mostram-se como uma boa escolha para tratamento da HD, principalmente em pacientes com recessões gengivais generalizadas que são mais suscetíveis a perda mineral erosiva.

ARGININA E CARBONATO DE CÁLCIO

Com os avanços na compreensão científica, novas vertentes desencadearam não só o tratamento direto da hipersensibilidade, mas também em mecanismos que diminuem a causa ou a transmissão do estímulo doloroso³². Representantes desse ideal, dentifrícios com arginina e carbonato de cálcio (Pró-Argin®) mostram-se como uma alternativa eficaz e segura^{33, 34}.

A arginina é um aminoácido básico estável em solução aquosa³⁵, quando em contato com a superfície do dente possui pH ligeiramente alcalino, o que favorece a oclusão física dos túbulos, pela deposição e precipitação de cálcio e fosfato oriundos da saliva³⁶, esse fenômeno só acontece devido ao mutualismo do complexo arginina – carbonato de cálcio. Funcionalmente, sugere-se ainda que a arginina é adsorvida sobre a superfície do carbonato de cálcio, formando um aglomerado de carga positiva que por afinidade se liga a superfície do dente carregada negativamente³⁷. Resultados mostram que dentifrícios a base de arginina reduzem significativamente a sensibilidade imediatamente após a aplicação direta e que o alívio é mantido com a continuação da escovação duas vezes ao dia³⁸⁻⁴⁰.

A arginina é altamente empregada e discutida atualmente, além do seu potencial para oclusão dos túbulos dentinários, no biofilme possui aparente capacidade de neutralizar os ácidos formados pela metabolização bacteriana de açúcares cariogênicos⁴¹ e ainda pode atuar revertendo os danos da desmineralização e promover a remineralização na associação com flúor e carbonato de cálcio⁴².

FOSFOSSILICATO DE SÓDIO E CÁLCIO

Categoricamente apresenta-se como um vidro bioativo, originalmente desenvolvido como um regenerador ósseo, assim os dentifrícios com fosfossilicato de sódio e cálcio (Novamin®) são altamente biocompatíveis e apresentam potencial efeito na remineralização dental⁴³⁻⁴⁵. Quando em solução aquosa, como a saliva, o dentifrício possibilita um aumento na biodisponibilidade de cálcio, fosfato e sódio que são atraídos para o colágeno da dentina, acarretando na formação de uma camada de apatita hidroxicarbonatada cristalina, quimicamente semelhante à apatita natural do dente, essa precipitação mineral oclui fisicamente os túbulos dentinários^{45,46}.

Devido a essa estrutura mineral, sugere-se que esse bloqueio físico é água e ácido resistente, inclusive com resistência superior que a promovida pelos dentifrícios à base de arginina e carbonato de cálcio^{47,48}. Apesar de não apresentar evidência de alívio imediato, tem eficácia comprovada⁴⁹ em 6-8 semanas⁵⁰, com resultados duradouros e mais perenes em comparação aos outros dentifrícios.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVA

1. Devido às características individuais e psicossomáticas da dor, sua mensuração é dificultada, e a ausência de ensaios clínicos controlados na literatura que comparem simultaneamente a efetividade de diferentes formulações de dentifrícios, impossibilita a constatação de qual seria o melhor dentifrício, principalmente devido ao método de ação diferenciado em cada princípio ativo, assim cada situação clínica pode acarretar em uma indicação diferente.
2. Dentifrícios a base de sais de potássio propiciam uma melhora gradativa da dor, entretanto a interrupção do uso é concomitante com o fim do efeito dessensibilizante.
3. Dentifrícios que ocluem fisicamente os túbulos dentinários são uma boa opção para pacientes que apresentam hipersensibilidade dentinária, pois tratam a causa da dor.

4. Os dentifrícios a base de arginina e carbonato de cálcio e dentifrícios com fosfossilicato de sódio e cálcio têm apresentado bons resultados. A formulação arginina e carbonato de cálcio propiciam alívio imediato e o complexo mineral anidro fosfossilicato de sódio e cálcio maior resistência aos desafios erosivos e abrasivos.

5. O cirurgião dentista deve estar preparado e embasado para um correto diagnóstico e quando necessário utilizar outros tratamentos para resolução e diminuição da hipersensibilidade dentinária.

6. A complexidade etiológica e fatorial da hipersensibilidade dentinária associada à característica subjetiva da dor demonstra a necessidade de mais estudos e desenvolvimento de materiais, principalmente os biomateriais, associados ou não a dentifrícios para o seu tratamento.

ABSTRACT

Dentifrices for dentine hypersensitivity treatment. / Dentin hypersensitivity (DH) is characterized as acute pain, localized and quickly duration, with complex and multifactorial etiology, associated processes such as attrition, erosion and abrasion. Toothpastes are recommended primarily because it has low cost and it is easy to use. Categorically, there are two ways of action of these dentifrices: 1) activity in nerve desensitization by blocking the painful stimulus, and 2) activity on the physical tubule occlusion acting in the cause which prevents the painful stimuli transmission. This article presents a literature review on the different formulations of toothpastes for dentine hypersensitivity treatment, as the toothpastes containing potassium and strontium salts, stannous fluoride combined with or without sodium hexametaphosphate and currently very discussed the ones containing arginine and calcium carbonate or calcium sodium phosphosilicate, and their possible additional therapeutic effects. This literature review objective is discussing the featured scientific evidences that encompass the indication, limitation and prospect of rational toothpastes uses. Toothpastes are important for dentine hypersensitivity treatment, and currently based formulations of arginine and calcium carbonate or calcium sodium phosphosilicate show themselves as a good alternative, but other active

ingredients should be listed in accordance with the subjectivities frame hypersensitivity

Keywords: Dentifrices. Toothpastes. Dentin Sensitivity

REFERÊNCIAS

1. Shiau HJ. Dentin hypersensitivity. *J Evid Based Dent Pract.* 2012;12(3 Suppl):220–8.
2. West NX. Dentine hypersensitivity: preventive and therapeutic approaches to treatment. *Periodontol 2000.* 2008;48(13):31–41.
3. Addy M, Shellis RP: Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear; in Lussi A (ed): Dental Erosion. From Diagnosis to Therapy. Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2006, vol 20, pp 17-31.
4. Brännström M. A hydrodynamic mechanism in the transmission of pain production stimuli trough dentine. In Anderson DJ. Sensory mechanisms in dentine. Pergmmon Press, Oxford, 1963; 73-79.
5. Holland GR, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.* 1997;24(11):808–13.
6. Porto IC, Andrade AK, Montes MA. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. *J Oral Sci* 2009;51(3):323-32.
7. Cummins D. Dentin hypersensitivity: from diagnosis to a breakthrough therapy for everyday sensitivity relief. *J Clin Dent* 2009; 20 (Spec Iss):1-9.
8. Markowitz K. The original desensitizers: Strontium and potassium salts. *J Clin Dent* 2009; 20 (Sp Is):145-151.
9. Markowitz K, Kim S. The role of selected cations in the desensitization of intradental nerves. *Proc Finn Dent Soc* 1992;88 (Suppl 1):39-54.

10. Tarbet WJ, Silverman G, Stolman JM, Fratarcangelo PA. Clinical evaluation of a new treatment for dentinal hypersensitivity. *J Periodontol* 1980;51:535-540.
11. Silverman G, Berman E, Hanna CB, Salvato A, Fratarcangelo PA, Bartizek RD, Bollmer BW, Campbell SL, Lanzalaco AC, MacKay BJ, McClanahan SF, Perlich MA, Shaffer JB. Assessing the efficacy on three dentifrices in the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Am Dent Assoc* 1996;127:191-201.
12. Chesters RK, Kaufman HW, Huntington E, Kleinberg I. Use of multiple sensitivity measurements and logit statistical analysis to assess the effectiveness of a potassium citrate-containing dentifrice in reducing dentinal hypersensitivity. *J Clin Periodontol* 1992;19:256-261.
13. Hu D, Zhang YP, Chaknis P, Petrone ME, Volpe AR, DeVizio W. Comparative investigation of the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing potassium citrate: An eight-week clinical study. *J Clin Dent* 2004;15:6-10.
14. Salvato AR, Clark GE, Gingold J, Curro FA. Clinical effectiveness of a dentifrice containing potassium chloride as a desensitizing agent. *Am J Dent* 1992;5:303-306.
15. Silverman G, Gingold J, Curro FA. Desensitizing effect of a potassium chloride dentifrice. *Am J Dent* 1994;7:9-124.
16. Haywood VB, Cordero R, Wright K, Gendreau L, Rupp R, Kotler M, Littlejohn S, Fabyanski J, Smith S. Brushing with a potassium nitrate dentifrice to reduce bleaching sensitivity. *J Clin Dent*. 2005; 16(1): 17-22.
17. Poulsen S, Errboe M, Lescoy Mevil Y, Glennly AM: Potassium containing toothpastes for dentine hypersensitivity. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; CD001476.
18. Mason S, Hughes N, Layer T. Considerations for the development of over-the-counter dentifrices for the treatment and relief of dentin sensitivity. *J Clin Dent* 2009;20 (Sp 1s):167-173.

19. Banfield N, Addy M. Dentine hypersensitivity: Development and evaluation of a model in situ to study tubule patency. *J Clin Periodontol* 2004;31; 325-335.
20. Claydon NCA, Addy M, MacDonald EI, West NX, Maggio B, Barlow A, Parkinson C, Butler A. Development of an in situ methodology for the clinical evaluation of dentin hypersensitivity occlusion ingredients. *J Clin Dent* 2009;20 (Sp Is):158-166.
21. Absi EG, Addy M, Adams D: Dentine hypersensitivity: uptake of toothpastes onto dentine and effects of brushing, washing and dietary acid. *J Oral Rehab* 1995; 22: 175-182.
22. Earl JS, Ward MB, Langford RM. Investigation of dentinal tubule occlusion using FIB-SEM milling and EDX. *J Clin Dent*. 2010;21(2):37-41
23. West NX, Addy M, Jackson RJ, Ridge DB. Dentine hypersensitivity and the placebo response. A comparison of the effect of strontium acetate, potassium nitrate and fluoride toothpaste. *J Clin Periodontol* 1997;24:209-215.
24. Gillam DG, Bulman JS, Jackson RL, Newman HN. Comparison of two desensitizing dentifrices with a commercially available fluoride dentifrice in alleviating cervical dentine hypersensitivity. *J Periodontol* 1996; 67:737-742.
25. Tarbet WJ, Silverman G, Fratarcangelo PA, Kanapka JA. Home treatment for dentinal hypersensitivity: A comparative study. *J Am Dent Assoc* 1982;105:227-230.
26. Kanapka JA. A new agent. *Compend Contin Educ Dent* 1982; (Suppl 3):S118-120.
27. Walters PA. Dentin hypersensitivity: A review. *J Contemp Dent Pract* 2005;6:1-10.
28. Schiff T, He T, Sagel L, Baker R. Efficacy and safety of a novel stabilized stannous fluoride and sodium hexametaphosphate dentifrice for dental hypersensitivity. *J Contemp Dent Pract* 2006;7:1-10.

29. White DJ, Lawless MA, Fatade A, Baig A, Von Koppenfels R, Duschner H, Gotz H. Stannous fluoride/sodium hexametaphosphate dentifrice increases dentin resistance to tubule exposure in vitro. *J. Clin. Dent., Yardley*, v. 18(2), p. 55-9, 2007.
30. Blong MA, Volding B, Thrash WJ, Jones DL. Effects of a gel containing 0.4% stannous fluoride on dentinal hypersensitivity. *Dent Hyg (Chic)* 1985;59:489-492.
31. Snyder RA, Beck FM, Horton JE. The efficacy of a 0.4% stannous fluoride gel on root surface hypersensitivity. *J Dent Res* 1985;62:201 (Abstr 237).
32. Markowitz K, Pashley DH: Discovering new treatments for sensitive teeth: The long path from biology to therapy. *J Oral Rehabil* 2007;35: 300-315
33. Docimo R, Perugia C, Bartolino M, Maturo P, Montesani L, Zhang YP, DeVizio W, Mateo LR, Dibart S. Comparative evaluation of the efficacy of three commercially available toothpastes on dentin hypersensitivity reduction: an eight-week clinical study. *J Clin Dent*. 2011;22(4):121-7.
34. Que K, Fu Y, Lin L, Hu D, Zhang YP, Panagakos FS, DeVizio W, Mateo LR. Dentin hypersensitivity reduction of a new toothpaste containing 8.0% arginine and 1450 ppm fluoride: an 8-week. *Am J Dent*. 2010 May;23 Spec No A:28A-35A
35. Zaloga GP, Siddiqui R, Terry C, Marik PE. Arginine: mediator or modulator of sepsis? *Nutr. Clin. Pract.*, v. 19, p. 201-215, 2004.
36. Petrou I, Heu R, Stranick M, Lavender S, Zaidel L, Cummins D, Sullivan RJ, Hsueh C, Gimzewski JK. A breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: How dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth. *J Clin Dent* 2009;20 (Sp 1s):23-31.
37. Kleinberg I. Sensistat. A new saliva-based composition for simple and effective treatment of dentinal sensitivity pain. *Dent Today* 2002;21:42-47.
38. Ayad F, Ayad N, Delgado E, Zhang YP, DeVizio W, Cummins D, Mateo LR. Comparing the efficacy in providing instant relief of dentin hypersensitivity of a

new toothpaste containing 8% arginine, calcium carbonate and 1450 ppm fluoride to a sensitive toothpaste containing 2% potassium ion and 1450 ppm fluoride, and to a control toothpaste with 1450 ppm fluoride: A three-day clinical study in Mississauga, Canada . J Clin Dent 2009;20 (Sp Is):115-122.

39. Nathoo S, Delgado E, Zhang YP, DeVizio W, Cummins D, Mateo LR. Comparing the efficacy in providing instant relief of dentin hypersensitivity of a new toothpaste containing 8% arginine, calcium carbonate and 1450 ppm fluoride relative to a sensitive toothpaste containing 2% potassium ion and 1450 ppm fluoride, and a control toothpaste with 1450 ppm fluoride: A three-day clinical study in New Jersey, USA. J Clin Dent 2009;20 (SpIs):123-130.

40. Schiff T, Delgado E, Zhang YP, DeVizio W, Cummins D, Mateo LR. A clinical investigation of the efficacy of a dentifrice containing 8% arginine, calcium carbonate and 1450 ppm fluoride in providing instant relief of dentin hypersensitivity: The effect of a single direct topical application using a cotton swab applicator versus the use of a fingertip . J Clin Dent 2009; 20 (Sp Is):131-136.

41. Wolff M, Corby P, Klaczany G, Santarpia P, Lavender S, Gittins E, et al. In vivo effects of a new dentifrice containing 1.5% arginine and 1450 ppm fluoride on plaque metabolism. J Clin Dent. 2013;24 (Spec Iss A):A45-A54

42. Cantore R, Petrou I, Lavender S, Santarpia P, Liu Z, Gittins E, Vandeven M, et al. In situ clinical effects of new dentifrices containing 1.5% arginine and fluoride on enamel de- and remineralization and plaque metabolism. J Clin Dent. 2013;24 (Spec Iss A):A32-A44.

43. Wefel JS. NovaMin: likely clinical success. Adv Dent Res. 2009;21(1):40-3

44. Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. Adv Dent Res. 2009;21(1):35-9.

45. Burwell A, Jennings D, Muscle D, Greenspan DC. NovaMin and dentin hypersensitivity--in vitro evidence of efficacy. J Clin Dent. 2010;21(3):66-71.

46. Greenspan DC. NovaMin and tooth sensitivity--an overview. *J Clin Dent.* 2010;21(3):61-5.
47. Parkinson CR, Willson RJ. A comparative in vitro study investigating the occlusion and mineralization properties of commercial toothpastes in a four-day dentin disc model. *J Clin Dent.* 2011;22(3):74-81
48. Parkinson CR, Butler A, Willson RJ. Development of an acid challenge-based in vitro dentin disc occlusion model. *J Clin Dent.* 2010;21(2):31-6.
49. Wang Z, Sa Y, Sauro S, Cen H, Xing W, Ma X, Jiang T, Wang Y. Effect of desensitizing toothpastes on dentinal occlusion. A dentine permeability measurement and SEM in vitro study. *J Dent* 2010;38:400-410.
50. Du MQ, Bian Z, Jiang H, Greenspan DC, Burwell AK, Zhong J, Tai BJ. Clinical evaluation of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate (NovaMin) for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent* 2008;21:210-21.

APÊNDICE 2

METODOLOGIA ILUSTRADA

CONFEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE E DENTINA

Foram utilizados incisivos bovinos hígidos, os quais, após extração, foram lavados em água purificada e armazenados em timol 0,1%. Setenta blocos de esmalte/dentina (4x4x2 mm) foram confeccionados em cortadeira metalográfica Isomet 1000 da Buehler (Figura 1) com disco diamantado (4" × 012 × 1/2, Buehler, Illinois, USA) para a obtenção dos fragmentos com área de superfície de 16 mm². A dentina foi planificada e a superfície do esmalte foi lixada e polida com lixas de carbetto de silício (Sic) de granulação #600, #1200 e #4000 (Figura 2B) sob irrigação constante, utilizando-se politriz giratória (Arotec, Cotia; SP, Brasil) (Figura 2A) para planificar a superfície. Por fim, a superfície de esmalte foi polida com feltros (TOP, RAM e SUPRA – Arotec, Cotia; SP, Brasil) (Figura 2C), associados às pastas diamantadas metalográficas de granulação decrescente (1, 1/2 e 1/4 µm). Entre cada aplicação de lixa, feltro e ao final do polimento, as amostras foram levadas à cuba de ultrassom (Marconi, Piracicaba, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 2D), durante 15 minutos para remoção de debris presentes na superfície de esmalte.



Figura 1. Cortadeira metalográfica de precisão Isomet 1000 (Buehler).

A espessura do esmalte e dentina foi estabelecida para cada substrato e as medidas exatas dos blocos dentais foram mensuradas com paquímetro digital

(Mitutuyo, Suzano, SP, Brasil). Cada espécime recebeu uma marcação com ponta diamantada nº 1012 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em uma das faces laterais (Figura 3) com a finalidade de padronizar o posicionamento da amostra durante a leitura de cor por espectrofotometria de reflectância. Todas as faces, exceto a de esmalte, objeto de estudo, foram protegidas com verniz ácido resistente incolor (Risqué, Taboão da Serra, SP, Brasil). Todas as amostras preparadas foram armazenadas em saliva artificial a 37 °C renovada diariamente durante todo o estudo. A saliva descrita continha formulação de Ca1,5 mM, Pi 0,9 mM, KCl 150 mM, 0,05 µg de F / mL , tampão Tris 0,1 M, tamponada em pH 7,0 (Queiroz et al., 2008).

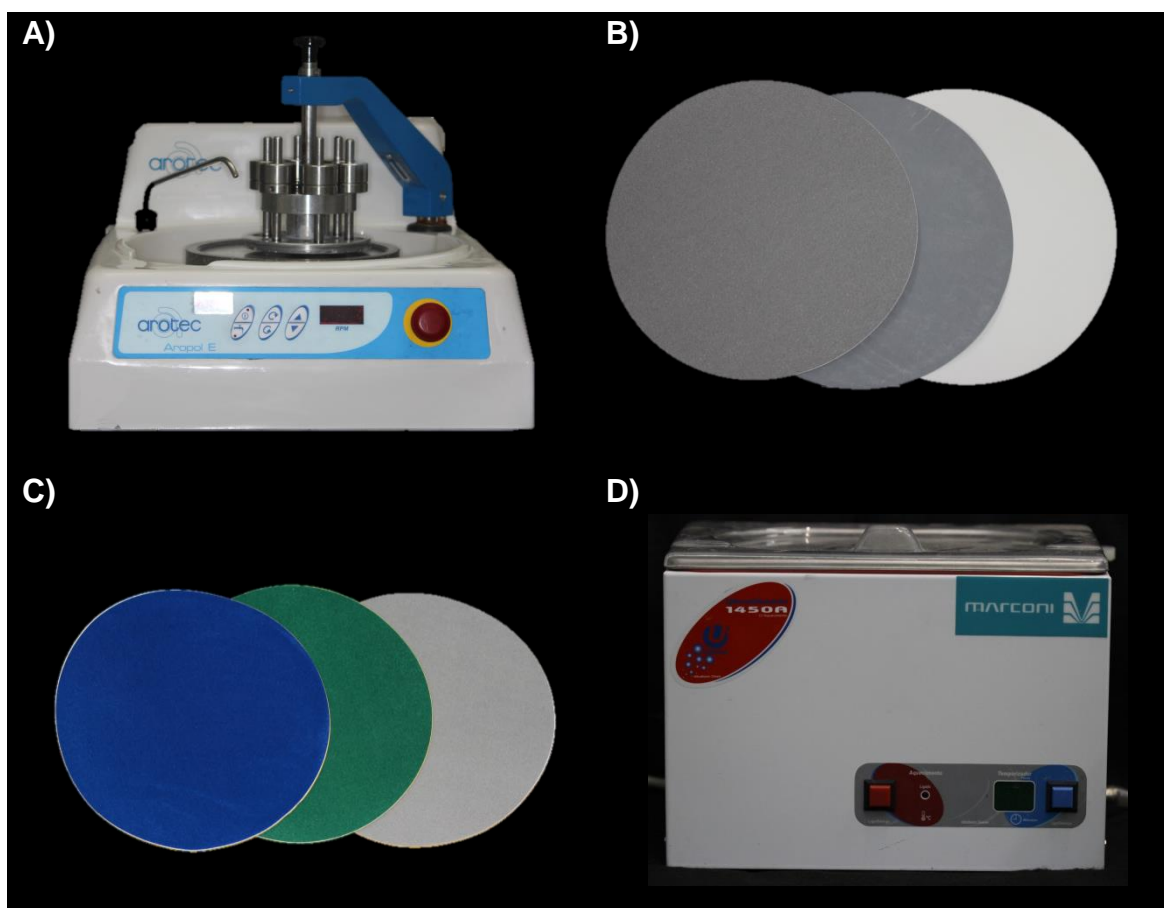


Figura 2. A) Politriz giratória B) Lixas de carbeto de silício de granulação #600, #1200 e #4000. C) Feltros TOP, RAM e SUPRA. D) Cuba de ultrassom.

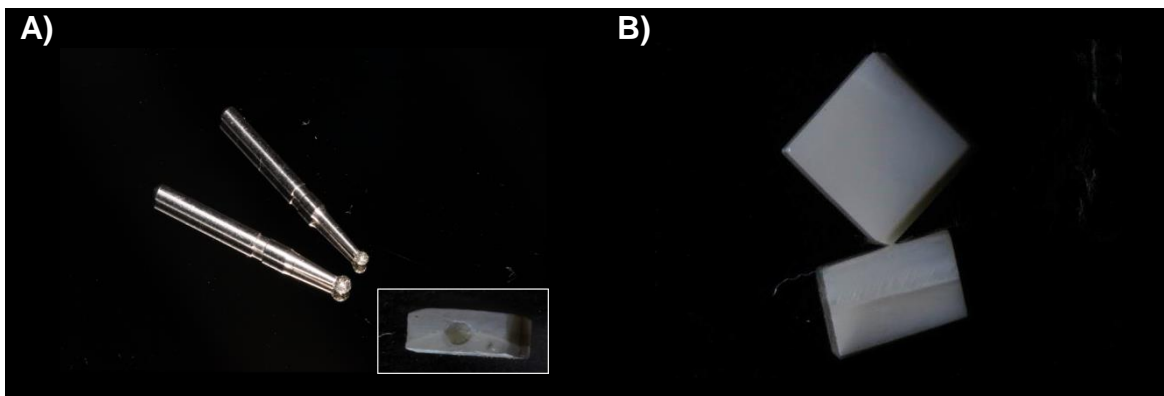


Figura 3. A) Marcação das amostras com ponta diamantada esférica 1012. B) Amostras finalizadas.

ANÁLISE DA COR – SISTEMA CIE L*a*b*

Foi mensurada a cor de cada espécime nos tempos: inicial (baseline – T0) e após o esmalte ser submetido aos tratamentos experimentais e clareamento com Peróxido de Hidrogênio 35% ou gel placebo (final – T1). Os blocos foram posicionados em porta amostra de teflon (Figura 4A) e a leitura de cor foi realizada utilizando o espectrofotômetro Konica Minolta CM 700d (Konica Minolta, Osaka, Japão) (Figura 4B) em ambiente de luz padronizado pela cabine GTI MiniMatcher MM 1 (GTI Graphic Technology Inc., Newburg, NY, EUA) (Figura 4C). O aparelho foi previamente calibrado de acordo com as instruções do fabricante e os resultados obtidos foram quantificados nas 3 coordenadas do sistema CIE L*a*b* pelo software *On Color* (Konica Minolta, Osaka, Japão). Os valores de L foram utilizados nesse estudo como fator de blocagem e randomização.

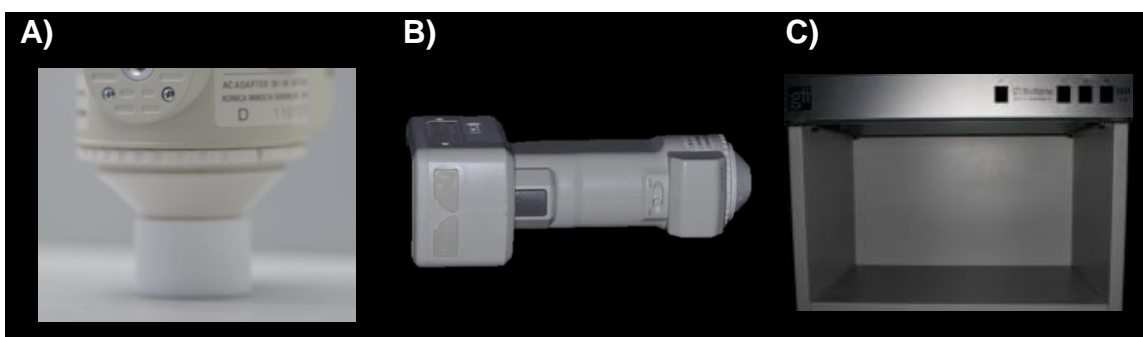


Figura 4. A) Porta amostra de teflon. B) Espectrofotômetro utilizado nesse estudo. C) Cabine de luz padronizada.

ANÁLISE DA RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE

Os corpos de prova foram submetidos à leitura da rugosidade de superfície do esmalte, utilizando um aparelho medidor de perfil superficial Surfscorder SE1700 (Kosaka Lab, Akita, Japão) (Figura 5A). Em cada operação de leitura considerada, a rugosidade média (R_a) representa a média aritmética entre os picos e vales registrados, após a respectiva agulha (Figura 5B) do rugosímetro percorrer, sobre a superfície em análise, um trecho de 3,0 mm de extensão, com filtragem (*cut-off*) de 0,25mm, para maximizar a filtragem da ondulação superficial. Em cada superfície, foram efetuadas três leituras, sempre com a agulha passando pelo centro geométrico da amostra, mas estando ela em três posições diferentes, obtidas após o giro de, aproximadamente, 120° na base (Figura 5B). Assim, a média das três leituras foi considerada a rugosidade média de cada superfície. A rugosidade foi mensurada nos espécimes nos tempos supracitados para a análise de cor.

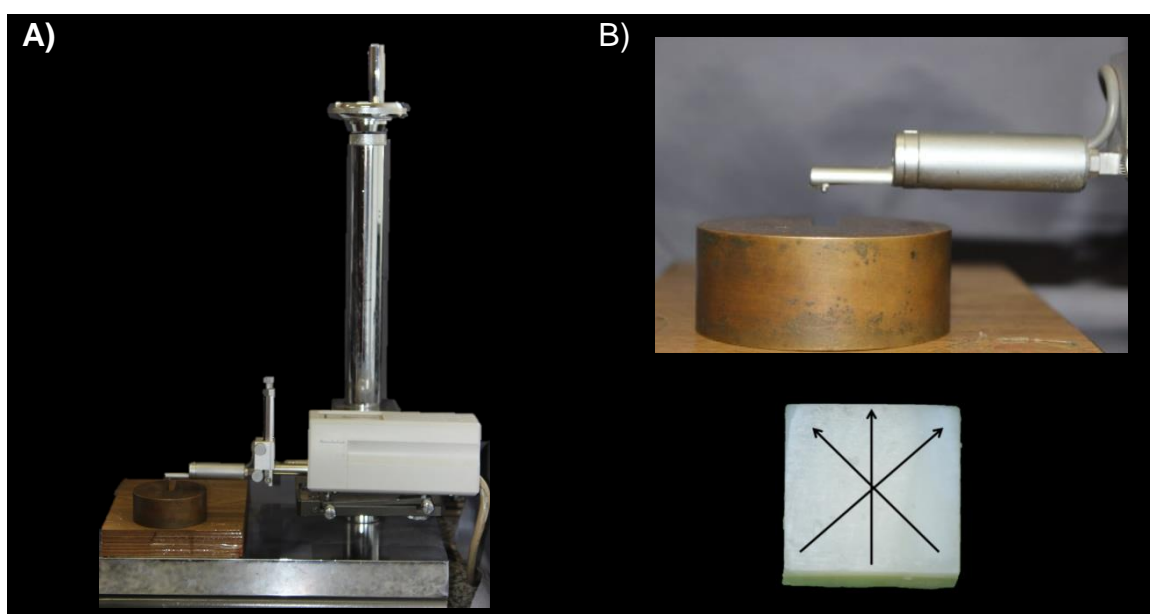


Figura 5. A) Rugosímetro Surfscorder SE1700. B) Ponta palpadora do aparelho medidor de perfil superficial e padrão das três leituras realizadas em cada espécime.

PROTOCOLOS DE TRATAMENTO NA MÁQUINA QUE SIMULA ESCOVAÇÃO

As amostras foram submetidas à simulação de escovação (Figura 6) em máquina automática (Equilabor, Piracicaba, SP, Brasil), sendo as mesmas fixadas com cola quente em suporte, de modo que a superfície planificada da amostra ficasse paralela com as escovas utilizadas, as quais são classificadas como: cabeça média e cerdas macias –“Oral-B indicator 40 soft” (Gillette do Brasil Ltda., Manaus, AM, Brasil). Os dentífrícios foram diluídos em água destilada (Figura 7) na proporção 1:3 em peso (“*slurry*”).



Figura 6. Máquina simuladora de escovação.

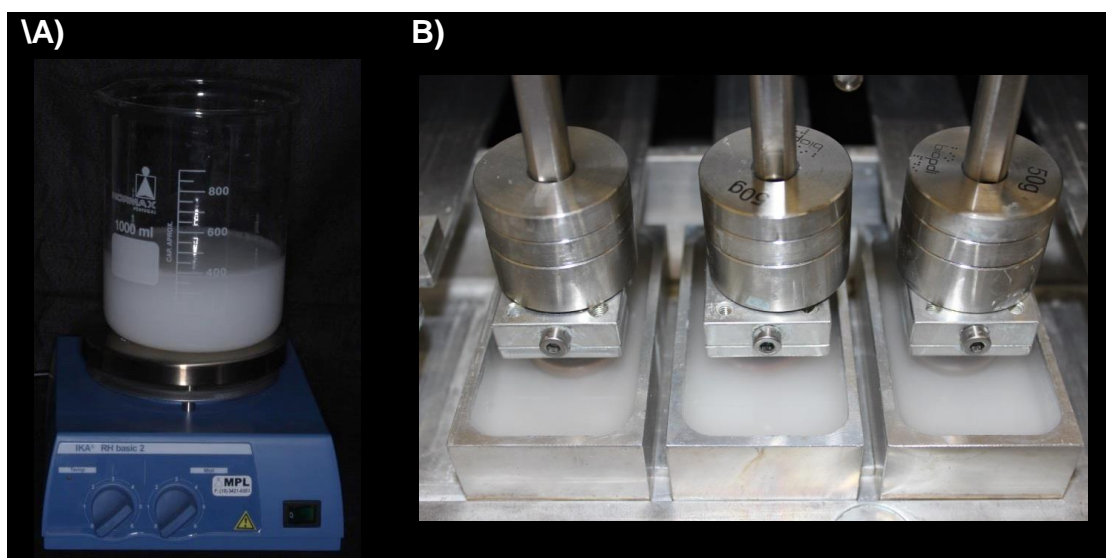


Figura 7. A) “*Slurry*” de dentífrício/água destilada preparado na proporção 1:3 B) Espécimes posicionados e embebidos no “*slurry*” para simulação na máquina de escovação.

A escovação foi simulada no dispositivo com carga axial de 200 gramas, com velocidade de 5 movimentos por segundos, a 37° C, submetidos a 750 ciclos (Turssi et al., 2003), equivalente proporcionalmente a 1 mês de uso dos dentífrícios. Após o ciclo de escovação os espécimes, foram lavados por 10 segundos em água destilada e imersos em saliva artificial por 24 horas, e então foram submetidos ao clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35% ou gel placebo. Os tratamentos utilizados, divisão de grupos, composição dos dentífrícios e imagem dos produtos estão apresentados na figure 8 e tabela 1.

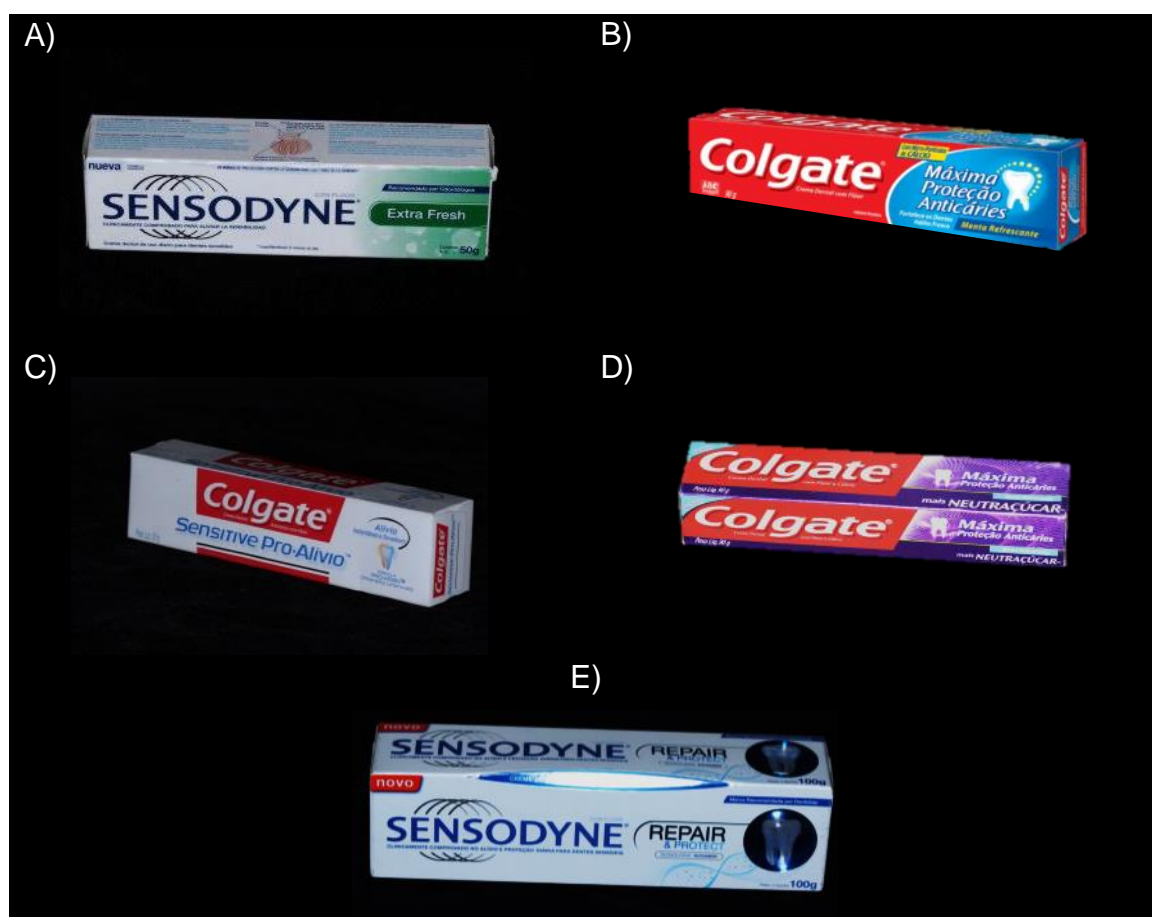


Figura 8. Apresentação comercial dos dentífrícios utilizados. A) Sensodyne® Extra Fresh. B) Colgate® Máxima Proteção anticáries. C) Colgate® Pró-Alívio Pro-Argin™. D) Colgate® Neutraçúcar™. E) Sensodyne® Repair & Protect Novamin™.

Tabela 1. Divisão de grupos, dentifrícios utilizados e composição de acordo com o fabricante.

Tratamento/ Grupo	Fabricante	Composição (fabricante)
Grupo 1 Água destilada (Esmalte não clareado) Controle negativo	-	-
Grupo 2 Água destilada + clareamento (CL) do esmalte Controle positivo	-	-
Grupo 3: Sensodyne® Extra Fresh + CL	GlaxoSmithKline Brasil Ltda, Rio de Janeiro, Brasil	Nitrato de Potássio 5%, Fluoreto de sódio (1426 ppm), água, sorbitol, glicerina, cocamidopropil- betaína, goma xantana, dióxido de titânio, sacarina sódica, sucralose , Menta piperita, limoneno.
Grupo 4: Colgate® Máxima Proteção anticáries + CL	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brasil	Monofluorofosfato de sódio (1450 ppm F), carbonato de cálcio, água, glicerina, lauril sulfato de sódio, goma de celulose, aroma, pirofosfato tetrasódico, bicarbonato de sódio, álcool benzoico, sacarina sódica, hidróxido de sódio.
Grupo 5: Colgate® Pró-Alívio Pro-Argin™+ CL	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brasil	Arginina 8%, Monofluorofosfato de sódio (1450 ppm F), carbonato de cálcio, água, sorbitol, bicarbonato de arginina, lauril sulfato de sódio, goma de celulose, dióxido de titânio, pirofosfato tetrasódico, bicarbonato de sódio, álcool benzílico, sacarina sódica, goma xantana, limoneno.
Grupo 6: Colgate® Neutraçucar™+ CL	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brasil	Arginina 1,5%, Monofluorofosfato de sódio (1450 ppm F), carbonato de cálcio, água, glicerina, bicarbonato de arginina, lauril sulfato de sódio, goma de celulose, dióxido de titânio, pirofosfato tetrasódico, bicarbonato de sódio, álcool benzílico, sacarina a sódica, hidróxido de sódio.
Grupo 7: Sensodyne® Repair & Protect Novamin™ + CL	SmithKline Beecham Consumer Heathcare, Berkshire, Reino Unido	Fosfossilicato de sódio e cálcio 5%, monofluorofosfato de sódio (1426 ppm F), glicerina, PEG - 8, o dióxido de titânio, carbómero, cocamidopropilbetaina, cocoilmetilaurato de sódio, sacarina sódica, limoneno.

EXPOSIÇÃO AO GEL PLACEBO OU CLAREADOR

Nos grupos clareados (G2-G7) o tratamento foi realizado com peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP, FGM, Joinville-SC, Brasil) (Figura 9), de acordo com as instruções do fabricante, onde o gel foi aplicado por três vezes, com duração de 15 minutos cada aplicação. Para padronização e quantificação iônica no gel, a aplicação foi realizada em aparato específico em balança analítica de precisão (Shimadzu AUW 220 d, Kyoto, Japão) (Figura 10), assim a massa do gel em gramas foi determinada. O grupo controle negativo foi exposto um tratamento com gel placebo (Proderma, Piracicaba, SP, Brasil), composto por água destilada, carbopol neutralizado, glicerina e trietanolamina tamponado em pH 6,0 (pH inicial do agente clareador utilizado nesse estudo). Após o período de exposição do gel, os espécimes foram embebidos em água destilada deionizada em micro tubo e, submetidos à vibração em cuba ultrassônica Marconi, e então a alíquota de gel diluído foi armazenada e submetida à quantificação de íons Fósforo.



Figura 9. Apresentação comercial do clareador a base de peróxido de hidrogênio 35%, utilizado nesse estudo.



Figura 10. Balança analítica de precisão Shimadzu A UW 220d.

MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE

A análise de microdureza de superfície final do esmalte foi realizada por meio de microdurômetro com indentador Knoop (Shimadzu HMV-2000, Shimadzu Corp., Kyoto, Japão) (Figura 11), com carga estática de 50 gramas por 5 segundos. Foram realizadas cinco indentações com distância 100 μm entre elas, na região central do espécime.



Figura 11. Microdurômetro Shimadzu HMV-2000.

MICRODUREZA SUBSUPERFICIAL

Para a análise de microdureza subsuperficial, os espécimes foram seccionados longitudinalmente (Figura 12A) em cortadeira metalográfica Isomet 1000 com disco diamantado. Após a secção do espécime, os fragmentos foram

embutidos com resina termoplástica utilizando-se embutidora metalográfica (Arotec Pré 30, Cotia, SP, Brasil) (Figura 12B), com tempo de cinco minutos de aquecimento e pressão controlada entre 100 e 150kgf/cm², seguido por oito minutos de resfriamento. Esse procedimento permitiu a planificação e polimento das amostras com lixas abrasivas e discos de feltro conforme o protocolo já descrito, proporcionando uma superfície ideal para a avaliação de microdureza em profundidade (Figura 12D). A análise em subsuperfície foi realizada em cinco profundidades: 10, 25, 50, 75 e 100 µm (Figura 12D). Em cada uma das profundidades foram realizadas três indentações, com carga de 50 gramas, durante cinco segundos e com 100 µm de distância entre elas, utilizando microdurômetro com indentador Knoop (Shimadzu HMV-2000, Shimadzu Corp., Kyoto, Japão) .

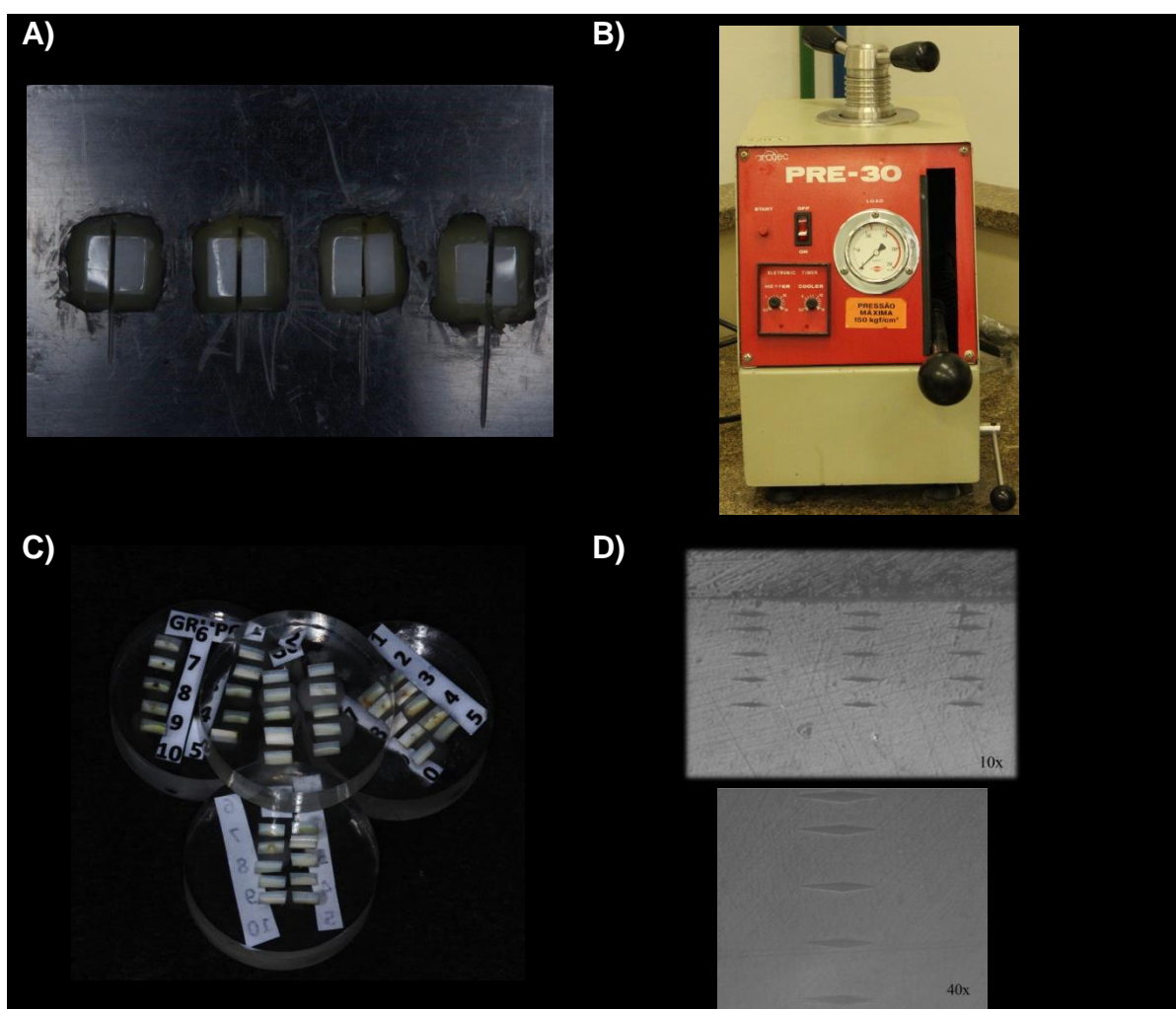


Figura 12. A) Espécimes seccionados longitudinalmente. B) Embutidora AROTEC Pre-30. C) Corpos de prova embutidos e prontos para análise de microdureza em profundidade. D) Padrão de distância entre indentações, no aumento de 10x (100 µm de distância entre sequências) e 40x (10, 25, 50, 75 e 100 µm em profundidade).

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para avaliação qualitativa dos tratamentos, aleatoriamente foram escolhidas cinco amostras de cada grupo para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV (Jeol, JSM 5600LV, Tóquio, Japão). Sequencialmente, as amostras foram lavadas em cuba ultrassônica (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) e foram realizados banhos em solução aquosa de álcool absoluto nas amostras com diferentes proporções (50%, 75%, 95%, 100%) com duração de 10 minutos cada um. Feito isso, as amostras foram fixadas em disco de acrílico para serem metalizadas (Bal-Tex SCD 050 sputter coter, Alemanha) com uma camada de ouro-paládio (Figura 13).

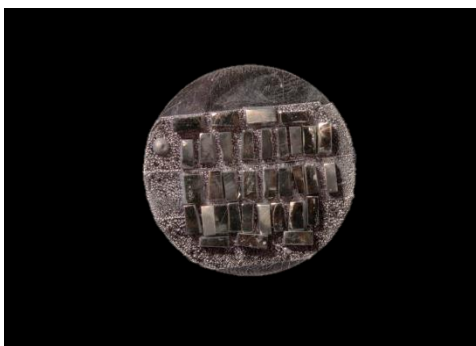


Figura 13. Amostras metalizadas para análise em MEV.

ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA POR RAIOS-X (EDS)

Os outros cinco espécimes não utilizados para análise em MEV foram submetidos à quantificação dos compostos químicos existentes superficialmente por meio da espectrometria de energia dispersiva de raios-x (Energy Dispersive x-ray Spectrometer - EDS). Para isso, foi utilizado o microscópio Vantage (Aquisition Engine Company, Tóquio) com o software Easymicro Voyager digital, versão 5.2. Para essa análise, as amostras foram submetidas em vácuo à

pulverização catódica (Delton Vacuum, Desk II, Moorestown, NJ, EUA), para cobertura do espécime com uma fina camada de carbono. Então, a avaliação do conteúdo inorgânico presente nos substratos foi realizada pelo equipamento MEV (Jeol, JSM5600LV, Tóquio, Japão), em cinco regiões por espécime, com energias típicas de ordem 15kV, em aumento de 100x, com PHA *deadtime* variando entre 20 e 25%. Para avaliação da composição química superficial do esmalte, os resultados foram descritos por meio da porcentagem média dos elementos químicos encontrados na superfície dos blocos e representados qualitativamente por gráficos de constituição e distribuição de elementos.

DOSAGEM DE ÍONS FOSFÓRO NO GEL CLAREADOR

Após a remoção do gel clareador ou placebo da superfície do esmalte e diluição em água destilada deionizada, foi realizada a determinação da concentração de fósforo inorgânico pelo método de Fiske & Subarrow (1925) (Figura 14). A metodologia foi modificada pela incorporação de padrões conhecidos nas amostras, para quantificação de pequenas concentrações de fósforo. Esse método colorimétrico (Figura 14A e 14B) analisa a intensidade de cor em um espectrofotômetro de absorvância (DU 800, Beckman Coulter, Califórnia, EUA)(Figura 14C e 14D) a 660 nm, previamente calibrado com padrões de 0 a 24 $\mu\text{g Pi/mL}$. Os resultados foram tabulados, quantificados e expostos em $\mu\text{g Pi/ mg de gel}$.

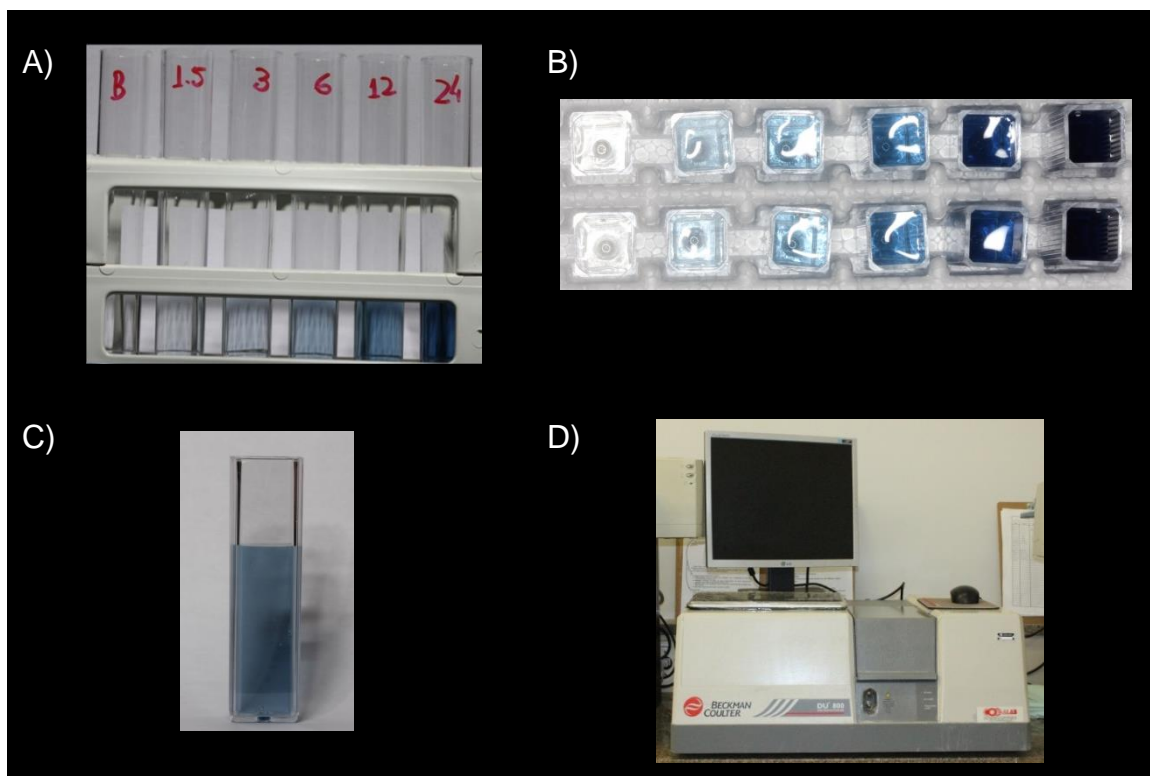


Figura 14. A-B) Análise colorimétrica proposta por Fiske & Subarrow, 1926. C) Cubetas descartáveis utilizadas para análise em espectrofotometria de absorvância. D) Espectrofotômetro DU 800 (Beckman Coulter).

ANEXO 1

SUBMISSÃO DO ARTIGO REFERENTE AO CAPITULO 1

15-042-L Manuscript received - Operative Dentistry



editor@jopdent.org (editor@jopdent.org) [Adicionar aos contatos](#) 09/02/2015 ▶

Para: waldemir.f@hotmail.com Cc: deboralima@fop.unicamp.br, cinthia@fop.unicamp.br, glaucia@fop.unicamp.br, aguiar@fop.unicamp.br, lovadino@fop.unicamp.br, wal...

Dear Mr. Vieira-Junior,

On February 9, 2015, I received your manuscript entitled "Effect of toothpaste application prior to dental bleaching on whiteness effectiveness and enamel properties" by Waldemir Vieira-Junior, Débora Lima, Cinthia Tabchoury, Glauca Ambrosano, Flávio Aguiar, and Jose Lovadino.

Your manuscript has been assigned the Paper #: 15-042-L.

You may check on the status of this manuscript by visiting your author home page at <http://jopdent.allentrack.net>.

Thank you for submitting your work to Operative Dentistry.

Sincerely,

Kevin Matis
Editorial Assistant
Operative Dentistry

ANEXO 2

CARTA DE APROVAÇÃO E AUTORIZAÇÃO PARA USO DE ARTIGO EM DISSERTAÇÃO

Artigo Aprovado SGP/ RDPE

↑ ↓ ✕



sgprdpe@dentalpressjournals.com.br 13/08/2014 ▶
Para: waldemir.f@hotmail.com ✕

Revista Dental Press de
Estética

Revista Dental Press de Estética

Av. Euclides da Cunha, 1718 - Zona 5,
CEP 87015-180
Maringá - Paraná - Brasil
Fone/Fax (0xx44) 3031-9818
E-mail: sgprdpe@dentalpressjournals.com.br

Maringá, quarta-feira, 13 de agosto de 2014

Ilmo(a) Sr.(a)
Prof(a), Dr(a) Waldemir Francisco Vieira Junior

Referente ao protocolo: **251**
Classificação: **Novo Artigo**

Temos o prazer de informar que o manuscrito Dentifícios para o tratamento da hipersensibilidade dentinária foi aprovado pelo Conselho Editorial da Revista Dental Press de Estética e será publicado em breve. Lembramos que algumas modificações poderão ser solicitadas até a publicação do artigo.

Obrigado por submeter seu trabalho à Revista Dental Press de Estética.

Atenciosamente,

Marcelo Calamita

Re: Dental Press - Artigo 251 - URGENTE

↑ ↓ ✕



Dental Press Editora Adicionar aos contatos 18/11/2014 ▶
Para: Waldemir Francisco Vieira Junior ✕

Prezado Waldemir

Agradecemos pelo retorno e pelo envio de seu artigo a nossa revista. O senhor pode colocar as informações que precisar em seu trabalho.

Para que possa ajudá-lo, envio abaixo as datas:

Submissão: 07/04/2014
Aprovação: 13/08/2014

O senhor precisa de algo mais que possamos ajudá-lo?

Qualquer dúvida estaremos à disposição.

Atenciosamente,

Simone L. L. Rafael
Bibliotecária / Coordenação de artigos
Dental Press Editora
biblioteca.dentalpress@gmail.com
44-3033-9818