

AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO MINERAL DO ESMALTE E BIOCAMPATIBILIDADE DE AGENTES CLAREADORES CONTENDO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E BIOCAMPATIBILIDADE

Palavras-chave: Clareamento, Peróxido de Hidrogênio, Biossilicato

Autores/as:

**Roberta Soares Kabayashi, FOP/UNICAMP
Prof.^a Dr.^a Vanessa Cavalli Gobbo (orientadora), FOP/UNICAMP
Ms.^a Camila da Silva Coelho (co-orientadora), FOP/UNICAMP**

Co-autores:

**Marina Trevelin Souza, UFSCar
Edgar Dutra Zanotto, UFSCar**

INTRODUÇÃO:

O clareamento dental é um método conservador e seguro, que apresenta ótimos resultados para os pacientes que buscam uma melhora na estética do sorriso. As técnicas utilizadas para o clareamento dental de consultório, são geralmente realizadas com peróxido de hidrogênio em alta concentração (PH; 25 a 40%) (Basting et al., 2012). O PH age por meio de geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Joiner et al., 2006), que penetram no esmalte e através de uma reação de oxidação quebram os pigmentos presentes no substrato dental (Kwon & Wertz, 2015). Apesar de ótimos resultados estéticos (Basting et al., 2012), estudos mostram que a utilização desses produtos pode ocasionar alterações à estrutura dental. Entre elas estão alterações morfológicas, estruturais do esmalte dental e do conteúdo mineral (Joiner et al., 2006; Cavalli et al., 2010; Cavalli et al., 2018).

Na busca por mecanismos que possam oferecer um protocolo que diminua as alterações indesejadas do gel clareador, agentes experimentais a base de peróxido de hidrogênio em baixas e altas concentrações com a adição de íons Ca ou F têm sido testados (Cavalli et al., 2010. 2011 e 2018), apresentando um controle da perda mineral do esmalte contendo lesão inicial de cárie, mas não revertendo a perda mineral.

Uma outra opção é a utilização do biossilicato, sendo esse uma vitrocerâmica altamente bioativa e totalmente cristalizada que apresenta formação de tecido ósseo e áreas mais extensas de matriz óssea mineralizada sobre a biocompatibilidade com o implante dentário (Roriz et al., 2010). Eficaz em promover oclusão mais duradoura de túbulos dentários, reduzindo a hipersensibilidade dentinária (Tirapelli et al., 2010). O biossilicato também age como agente remineralizador após o clareamento com PH, reduzindo a perda mineral do esmalte por ter uma maior concentração de Ca e P, íons que promovem um efeito remineralizador (Rastelli et al., 2016). Até o momento não há estudos que avaliam a associação do PH com o biossilicato durante o clareamento, com isso, esse estudo tem o objetivo de avaliar o conteúdo mineral do esmalte submetido ao tratamento de



clareamento com PH associado ao biosilicato, assim como a citotoxicidade do PH em células de linhagem odontoblástica.

METODOLOGIA:

1. Preparo, seleção e armazenamento dos blocos

Para esse estudo *in vitro*, incisivos bovinos com suas coroas íntegras e sem trincas, foram limpos com lâmina de bisturi, pedra pomes e desinfetados em solução de timol a 0,5% (Labsynth, Diadema, SP, Brasil), foram seccionados com disco diamantado (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), obtendo 60 blocos de esmalte padronizados em 4 x 4mm. Os blocos tiveram a dentina planificada (AROTEC, São Paulo, Brasil) (#600), permitindo um paralelismo e o esmalte abrasionado com (#600) e (#1200), seguido do polimento com feltro e pasta diamantada, respectivamente.

2. Delineamento experimental

Os blocos foram divididos em 6 grupos (n=10): PH experimental (PH_EXP); PH comercial (PH_COM); PH + gel a base de biosilicato 5% (PH_5BS); PH + gel a base de biosilicato 10% (PH_10BS); PH + gel a base de biosilicato 15% (PH_15BS); Controle negativo, sem tratamento (CN) mantidos em saliva artificial (AS; pH 7,0) durante toda a pesquisa.

O clareamento foi realizado em 3 sessões com intervalo de 72 horas entre cada sessão e avaliação de microdureza de superfície no baseline, 24 horas após cada sessão de clareamento e 14 dias após a 3ª sessão. Foi realizado um ensaio de atividade metabólica celular MTT (n=4).

3. Clareamento Dental

Foi utilizado um espessante à base de BS com concentração final de 5%, 10% e 15% (de acordo com o grupo) preparado com carboximetilcelulose (6% p/v) - frasco 1. O frasco 2 contendo PH 35% era utilizado a partir do gel clareador Total Blanc Office® (Total Blanc Office®, Nova DFL, Brasil). A mistura dos dois frascos foi realizada imediatamente antes das sessões de clareamento.

Os géis experimentais contendo BS foram aplicados sob toda a superfície do esmalte em uma camada de 1 mm de espessura por 40 min, seguido de lavagem com água purificada. Esse protocolo foi realizado em três sessões, com um intervalo de 72 horas entre cada sessão. Entre os protocolos de clareamento os blocos de esmalte foram mantidos em saliva artificial (pH 7,0) à 37°C.

4. Microdureza de superfície

A microdureza da superfície do esmalte dos blocos foi obtida por meio de 3 impressões na região central do bloco, com penetrador tipo Knoop (Future Tech-FM-1e, Tokyo, Japan), com carga estática de 50 g por 5 s e com 100 µm de distância entre elas. A análise de microdureza de superfície foi realizada no baseline, 24 horas após cada sessão de clareamento e 14 dias após a 3ª sessão.

5. Ensaio de atividade metabólica celular (MTT)



Coroas bovinas (n= 4/grupo) foram preparadas e esterilizadas antes do início do experimento, na sequência foi colocado 120 μL de DMEM dentro de cada coroa e realizado o protocolo clareador como descrito no item 3. Esse procedimento foi realizado para sensibilizar o meio de cultura com os radicais que atravessam esmalte/dentina. O meio de cultura foi coletado e transferido para a placa de 96 poços com as células de linhagem odontoblástica MDPC-23, e mantido em estufa CO_2 (5% a 37°C) por 40 min.

Após esse período, o meio de cultura foi descartado e adicionado 100 μL da solução de MTT e mantidos em estufa por 3 h. Na sequência, essa solução foi descartada e adicionado 100 μL de álcool absoluto e agitado com a ponteira, em seguida esse conteúdo foi transferido para uma nova placa e feito a leitura em espectrofotômetro. Os dados foram expressos em porcentagem de biocompatibilidade celular.

6. Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade. Como os dados apresentaram normalidade, os resultados de conteúdo mineral foram submetidos ao Teste T pareado entre o valor de microdureza após a erosão e após o clareamento. Já os dados de análise de ensaio de atividade metabólica celular foram submetidos ao Teste ANOVA, seguido do teste Tukey. Foi adotado nível de significância de 5% para todas as análises.

RESULTADOS:

1. Análise do conteúdo mineral do esmalte

Conforme relatado na literatura, a aplicação de géis de PH na superfície de esmalte acarreta a diminuição da concentração de cálcio e fósforo. Sendo assim, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar se o gel de BS poderia minimizar os efeitos da perda mineral do esmalte.

Detectou-se que PH_10BS ($p=0,045$) e PH_15BS ($p=0,022$), obtiveram bons resultados nos testes de microdureza de superfície no tempo, e não promoveram alterações significativas no conteúdo mineral do esmalte. Os grupos PH_EXP ($p= 0,266$); PH_COM ($p= 0,202$); PH_5BS ($p=0,078$) e CN ($p=0,131$) não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação à microdureza após o clareamento.

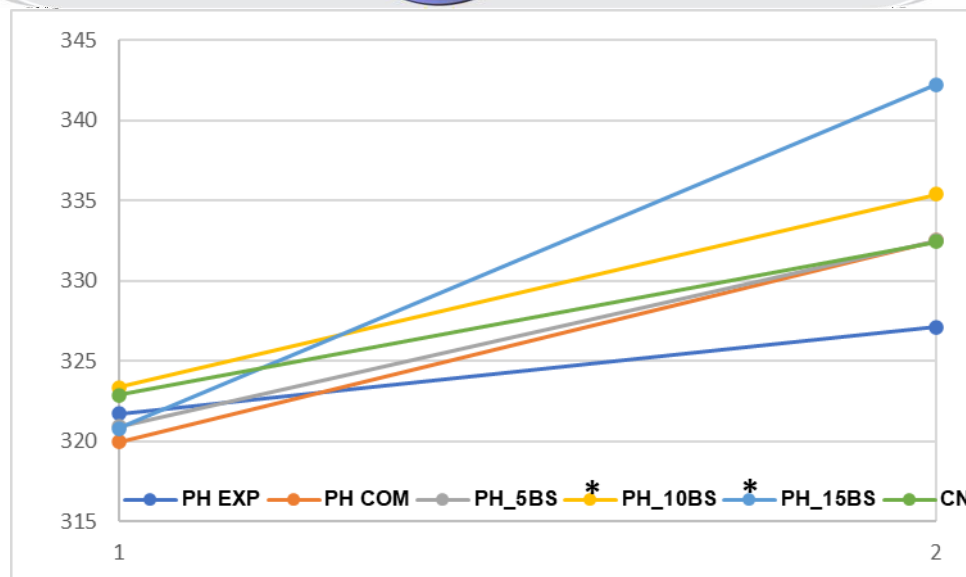


Gráfico 1: Concentração do conteúdo mineral do esmalte submetido aos diferentes protocolos clareadores associados ou não ao gel de Biossilicato.

2. Análise da biocompatibilidade

O teste in vitro para avaliação da citotoxicidade foi realizado com células imortalizadas de linhagem odontoblástica MDPC-23, para analisar o risco de dano pulpar do peróxido após o gel atravessar a interface esmalte-dentina.

Foi observado que o grupo PH_EXP apresentou o maior valor de sobrevivência das células, diferindo estatisticamente de PH_COM e PH_15BS ($p < 0,05$). Estes grupos (PH_COM e PH_15BS) apresentaram maior % de morte celular em relação aos demais grupos, porém, não diferiram estatisticamente de PH_5BS, PH_10BS. Ainda, de acordo com a % de morte celular, todos os grupos apresentaram baixa toxicidade às células da linhagem MDPC-23.

Tabela 1: Análise de citotoxicidade e sobrevivência das células odontoblásticas MDPC-23 aos diferentes protocolos clareadores.

Grupos	Porcentagem do metabolismo celular (%)
Controle Negativo	100 A
PH_EXP	112,63 A
PH_COM	78,19 B
PH_5BS	89,16 AB
PH_10BS	91,77 AB
PH_15BS	76,98 B

As letras iguais indicam que não há diferenças estatísticas entre os grupos.

CONCLUSÃO:

Os géis experimentais contendo as maiores concentrações de Biossilicato associado ao peróxido de hidrogênio (PH_10BS e PH_15BS) apresentaram aumento nos valores de



microdureza de superfície após o tratamento clareador em relação ao PH comercial. Ainda, apresentaram baixa toxicidade celular em células da linhagem odontoblástica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Basting RT, Amaral FL, França FM, Flório FM. Clinical comparative study of the effectiveness of and tooth sensitivity to 10% and 20% carbamide peroxide home-use and 35% and 38% hydrogen peroxide in-office bleaching materials containing desensitizing agents. *Oper Dent*. 2012 Sep-Oct;37(5):464-73. doi: 10.2341/11-337-C.
- Berger SB, Cavalli V, Ambrosano GM, Giannini M. Changes in surface morphology and mineralization level of human enamel following in-office bleaching with 35% hydrogen peroxide and light irradiation. *Gen Dent*. 2010 Mar-Apr;58(2):e74-9. PMID: 20236907.
- Cavalli V, Giannini M, Carvalho RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater*. 2004 Oct;20(8):733-9. doi: 10.1016/j.dental.2003.10.007.
- Cavalli V, Rodrigues LKA, Paes-Leme AF, Brancalion ML, Arruda MAZ, Berger SB, et al. Effects of bleaching agents containing fluoride and calcium on human enamel. *Quintessence Int*. 2010;41(8): e157- 65.
- Cavalli V, Rosa DA, Silva DP, Kury M, Liporoni PCS, Soares LE, Martins AA. Effects of experimental bleaching agents on the mineral content of sound and demineralized enamels. *J Applied Oral Sciences*, 2018, in press.
- da Silva AP, de Oliveira R, Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, de Carvalho RM. Effect of peroxide-based bleaching agents on enamel ultimate tensile strength. *Oper Dent*. 2005 May- Jun;30(3):318-24. PMID: 15986951.
- De Paula S, Soares LE, do Espírito Santo AM, Martin AA, Cavalli V & Liporoni PC (2010). FT-Raman and energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometric analyses of enamel submitted to 38% hydrogen peroxide bleaching, an acidic beverage, and simulated brushing. *Photomedicine and laser surgery* 28(3) 391–396.
- Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent*. 2006 Aug;34(7):412-9. doi: 10.1016/j.jdent.2006.02.002.
- Moura J., Teixeira L.N., Ravagnani C., Peitl O., Zanotto E.D., Beloti M.M., et al., In vitro osteogenesis on a highly bioactive glassceramic (Biosilicate), *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2007; 82(3): 545–557.
- Rastelli ANS, Nicolodelli G, Romano RA, Milori DMBP, Perazzoli ILO, Ferreira EJ et al. After bleaching enamel remineralization using a bioactive glass-ceramic (BioSilicate®). *Biomedical Glasses*. 2016; 2: 1-9.
- Roriz VM, Rosa AL, Peitl O, Zanotto ED, Panzeri H, de Oliveira PT. Efficacy of a bioactive glass- ceramic (Biosilicate) in the maintenance of alveolar ridges and in osseointegration of titanium implants. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(2):148-155.
- Santos LF, Torres CR, Caneppele TM, Magalhães AC, Borges AB. Effect of home-bleaching gels modified by calcium and/or fluoride and the application of nano-hydroxyapatite paste on in vitro enamel erosion susceptibility. *Acta Odontol Scand*. 2015;74(2):121-6.
- Tirapelli C., Panzeri H., Soares R.G., Peitl O., Zanotto E.D., A novel bioactive glass- ceramic for treating dentin hypersensitivity. *Braz. Oral Res*. 2010, 24(4), 381–387.
- Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. *Dent Mater*. 2007 Feb;23(2):243-50. doi: 10.1016/j.dental.2006.06.044.