

**DIANDRA COSTA ARANTES**

**EFEITO DO USO E DO MOMENTO DE APLICAÇÃO DE  
DENTIFRÍCIOS DESSENSIBILIZANTES NA COR, REFLETIVIDADE,  
RUGOSIDADE E NANODUREZA DO ESMALTE CLAREADO**

**Faculdade de Odontologia  
Universidade Federal de Minas Gerais  
Belo Horizonte  
2019**

Diandra Costa Arantes

**EFEITO DO USO E DO MOMENTO DE APLICAÇÃO DE  
DENTIFRÍCIOS DESSENSIBILIZANTES NA COR, REFLETIVIDADE,  
RUGOSIDADE E NANODUREZA DO ESMALTE CLAREADO**

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Odontologia – área de concentração em Clínica Odontológica.

**Orientador:** Prof.(a) Dr.(a) Cláudia Silami de Magalhães

**Coorientador:** Prof.(a) Dr.(a) Monica Yamauti

Belo Horizonte  
2019

## Ficha Catalográfica

A662e Arantes, Diandra Costa.  
2019 Efeito do uso e do momento de aplicação de dentifrícios  
T dessensibilizantes na cor, refletividade, rugosidade e  
nanodureza do esmalte clareado / Diandra Costa Arantes. --  
2019.

80 f. : il.

Orientadora: Cláudia Silami de Magalhães.

Coorientadora: Monica Yamauti.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de Minas  
Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Esmalte dentário. 2. Sensibilidade da dentina. 3.  
Clareamento dental. 4. Dentifrícios. I. Magalhães, Cláudia  
Silami de. II. Yamauti, Monica. III. Universidade Federal de  
Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

BLACK - D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**EFEITO DO USO E DO MOMENTO DE APLICAÇÃO DE DENTIFRÍCIOS  
DESSENSIBILIZANTES NA COR, REFLETIVIDADE, RUGOSIDADE E  
NANODUREZA DO ESMALTE CLAREADO**

**DIANDRA COSTA ARANTES**

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, como requisito para obtenção do grau de Doutor, área de concentração Clínica Odontológica.

Aprovada em 06 de dezembro de 2019, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Claudia Silani de Magalhaes - Orientadora  
FO-UFMG

Prof(a). Luis Fernando Morgan dos Santos Alves  
FO-UFMG

Prof(a). Rodrigo Richard da Silveira  
FO-UFMG

Prof(a). Alberto Nogueira da Gama Antunes  
PUC Minas

Prof(a). Monize Ferreira Figueiredo de Carvalho  
FACSETE

Belo Horizonte, 6 de dezembro de 2019.

Para Leila e Nelson, que me ensinaram  
que a educação é a maior herança  
deixada pelos pais aos filhos.

## AGRADECIMENTO

A Deus, por me permitir viver para chegar até aqui e alcançar esse sonho.

A Leila e Nelson, por fazerem tudo que podem para me ver feliz, por serem os construtores do meu caráter e de meus valores, por terem me estimulado a estudar desde muito pequena, por todas as orações, por tudo. Tudo que sou hoje devo a vocês.

Ao Diogo, por cuidar de mim, por nossa parceria e pelo apoio no doutorado.

Ao Gugu, que fez parte de toda minha construção como profissional, que sempre me incentivou a seguir em frente e que, mesmo já não tão perto, está em meu coração.

À Elaine, por ser como uma irmã, por cuidar de mim com tanta dedicação e paciência, por me confortar em momentos complicados e me fazer companhia em tantos outros.

À vó Déa e à tia Gilda (*in memoriam*), por cuidarem de mim mesmo à distância.

À professora Cláudia Silami de Magalhães, pela orientação na pesquisa, pela paciência, pelo incentivo ao crescimento profissional, por ser exemplo de professora e pesquisadora ética, detalhista, séria e dedicada e pela disponibilização de recursos para o desenvolvimento da pesquisa.

À professora Monica Yamauti, pela coorientação na pesquisa, pela preocupação com meu bem-estar em Belo Horizonte e pela disponibilização de recursos para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao professor Allyson Nogueira Moreira, por ser um defensor dos alunos da Clínica Odontológica, por reconhecer minha dedicação, pelas palavras de incentivo sempre e pela disponibilização de recursos para o desenvolvimento da pesquisa.

À professora Cristiane Assunção, pela colaboração primordial para o desenvolvimento da pesquisa, pela paciência, pelo carinho, pelos conselhos e pela contribuição com minha formação.

Ao professor Lucas Guimarães Abreu, pela colaboração com o desenvolvimento da pesquisa e de outros projetos durante o doutorado, por todos os ensinamentos, pela paciência, pela simpatia e pelo carinho.

À professora Amália Moreno, pelos ensinamentos, pelo carinho, pela paciência e por permitir que eu colaborasse com a redação de um de seus trabalhos.

Aos professores Mauro Abreu e Raquel Ferreira pelos ensinamentos em Bioestatística, que foram fundamentais para as análises dos resultados dessa pesquisa e, certamente, serão fundamentais para todo meu futuro profissional.

Aos professores Aline Sampaio e Felipe Fonseca, pelo carinho, pela receptividade e pelo apoio durante esses anos.

À professora Francisca Silami, pelo carinho e pela contribuição com o trabalho.

À professora Denise Travassos, pela contribuição com a preparação para o concurso da UFPA.

À Professora Isabela Pordeus, por conduzir o Programa de Pós-graduação com tanta força, dedicação e paixão.

Aos demais professores da Graduação e da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da UFMG, por todas as aulas ministradas, pelas orientações nas clínicas e por todos os novos conhecimentos proporcionados.

Aos professores Luís Morgan, Rodrigo Richard, Alberto Antunes, Monize Carvalho, Allyson Moreira e Ivison Limeira por aceitarem conhecer e contribuir com meu trabalho, como banca de minha defesa.

Aos funcionários do colegiado de pós-graduação, Laís, Luciene, Valéria, Letícia, Victor, pelo carinho, pela paciência e por estarem sempre dispostos a ajudar os alunos.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora, Helena e Márcia, pelo carinho diante das demandas acadêmicas.

Aos funcionários do Centro de Microscopia da UFMG, Jéssica, Maurício, Marcelo, Raquel e Breno pela simpatia, pela paciência, pelos ensinamentos e pela contribuição no trabalho.

Aos funcionários das clínicas, da esterilização e dos serviços gerais, por cuidarem de nosso material e de nosso local de trabalho e, assim, colaborar com o desenvolvimento do mesmo.

À UFMG, à Faculdade de Odontologia da UFMG e ao Laboratório de Pesquisa de Materiais Dentários pela acolhida e por permitirem o desenvolvimento da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e, assim, permitir minha dedicação exclusiva ao doutorado.

À FAPEMIG, por fornecer recursos para o desenvolvimento da pesquisa.

À Fernanda Arantes, por conduzir a pesquisa junto comigo, pelas conversas, pelas confidências, pelos conselhos e pelo carinho. Você é a flor.

Às amigas mais que especiais, Fernanda Neta, Fernanda Alves, Mími, Gabi e Meg, por serem meu porto-seguro desde muito cedo e em todos os momentos de minha vida. Queria muito vocês aqui comigo nesse dia.

Ao amigo Ivison, pela parceria que desenvolvemos na profissão e na vida. Obrigada por todo apoio durante os últimos anos, pelos almoços, pelos passeios, pela companhia, pelas missas, pelos conselhos, pela força, pela colaboração de todos os dias no Laboratório e na pesquisa.

Ao Henrique, por me acolher com carinho e por contribuir com meu bem-estar em Belo Horizonte.

Aos amigos da Clínica Odontológica, Clóvis, Ricardo, André, Caio, Bruno, Gabriel, Daniel, Léo, Carla, Tuélita, Monize, Tassiana, Débora, Natália Tavares, Natália Gomes, Elbert, Patrícia, Luiza, Camila, Richard, pelo apoio, pelo carinho, pelas conversas, pela troca de experiências e pelos ensinamentos de cada dia.

Aos amigos Sâmilla, Paula Garcia, Alcides, Leni, Ivana, Aline Cruz, Suellen Rocha, Suélen Teixeira, Lauren, Humberto, Sylvia, Matheus, Gustavo, Mariana, Rafaela, Jacqueline, Ana Clara, Priscila, Taynara, Renato, Ana Paula, Paula Remigio, por tornarem meus dias de doutorado mais leves e muito mais felizes.

A toda minha família, por sempre torcer pelo meu sucesso e por todas as orações.

A todos aqueles que torceram por minhas conquistas e a quem minha gratidão, de tão extensa que é, não caberia nestas páginas, mas perfeitamente cabe em meu coração.



## RESUMO

Este estudo *in vitro* teve como objetivo investigar o efeito de dentifrícios dessensibilizantes aplicados antes ou após o clareamento dental na cor, na refletividade (SRI), na rugosidade (Ra, RMS) e na nanodureza (NH) da superfície do esmalte. A reprodutibilidade das medidas de SRI e a sua associação com a cor e a rugosidade do esmalte foram também avaliadas. Blocos de esmalte e dentina (36 mm<sup>2</sup>) foram obtidos de 42 incisivos bovinos. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em sete grupos (n = 6), de acordo com os dentifrícios dessensibilizantes e o momento da aplicação (G1: controle, clareado e armazenado em saliva artificial; G2: Sensodyne Repair & Protect + clareamento dental; G3: clareamento dental + Sensodyne Repair & Protect; G4: Colgate Sensitive Pró-alívio + clareamento dental; G5: clareamento dental + Colgate Sensitive Pró-alívio; G6: Elmex Sensitive + clareamento dental; G7: clareamento dental + Elmex Sensitive. Três sessões de clareamento com peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP) foram realizadas, com intervalos de 7 dias, em T1, T2 e T3. Após cada dia de tratamento, as amostras foram armazenadas em saliva artificial. A cor foi mensurada por espectrofotômetro (VITA Easyshade) e sistema CIE L\*a\*b\* antes do início do tratamento (T0) e 7 dias após o término do tratamento (T4). A SRI foi medida por dois examinadores (R1, R2) usando um reflectômetro óptico (Optipen 2) em T0, T1, T2, T3 e T4. Ra, RMS e NH (GPa) do esmalte foram avaliadas em microscópio de força atômica e nanoindentador (Asylum Research) em T4. Comparações múltiplas entre grupos foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis e *post hoc* Dunn-Bonferroni. Concordância entre avaliadores na mensuração de SRI foi avaliada pelo Coeficiente de Correlação Intraclasse (CCI). Comparações múltiplas dos valores de SRI entre os momentos de avaliação para cada grupo foram realizadas pelo teste de Friedman e *post hoc* de Dunn-Bonferroni. A correlação entre variáveis foi analisada pelo teste de correlação de Pearson. Para Ra (p = 0,007), RMS (p = 0,018), cor (p = 0,016) e SRI (p = 0,009) foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Para NH (p = 0,920), não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. Após ajuste de Dunn-Bonferroni, foram encontradas diferenças significativas entre G1 e G5 para Ra (p = 0,033) e SRI (p = 0,004) em T4. Houve excelente concordância entre avaliadores (CCI = 0,873, Intervalo de Confiança 95% = 0,828/0,905). Considerando os tempos de avaliação, não houve diferença entre valores de SRI em T0 e T4 para todos os grupos. SRI apresentou correlação inversa moderada com Ra (r = -0.602) e RMS (r = -0.501). Concluiu-se que o dentifrício dessensibilizante Colgate Sensitive Pró-alívio aplicado após o clareamento dental apresentou maior rugosidade e menor refletividade que o grupo controle. Para os demais grupos, o dentifrício dessensibilizante aplicado antes ou após o clareamento dental não interferiu na nanodureza, na rugosidade, na cor e na refletividade final do esmalte. O reflectômetro Optipen 2 proporcionou excelente concordância interexaminadores. A refletividade não se alterou após clareamento e aplicação de dentifrícios dessensibilizantes com armazenamento em saliva artificial e mostrou correlação inversa com a rugosidade do esmalte.

**Palavras-chave:** Esmalte dentário. Sensibilidade da dentina. Clareamento dental. Dentifrícios.

## ABSTRACT

### **Effect of use and moment of application of desensitizing toothpastes on shade, reflectivity, roughness and nanohardness of bleached enamel**

This *in vitro* study aimed to investigate the effect of desensitizing toothpastes applied before or after dental bleaching on the enamel surface shade, reflection intensity (SRI), roughness (Ra, RMS) and nanohardness (NH). Inter-rater agreement for SRI measurements and SRI association with enamel shade and roughness were also evaluated. Enamel and dentin blocks (36 mm<sup>2</sup>) were obtained from 42 bovine incisors. The specimens were randomly divided into seven groups (n = 6) according to the desensitizing toothpastes and the moment of application (G1: control, bleached and stored in artificial saliva; G2: Sensodyne Repair & Protect + dental bleaching; G3: dental bleaching + Sensodyne Repair & Protect; G4: Colgate Sensitive Pro-Relief + dental bleaching; G5: dental bleaching + Colgate Sensitive Pro-Relief; G6: Elmex Sensitive + dental bleaching; G7: dental bleaching + Elmex Sensitive). Three bleaching sessions using 35% hydrogen peroxide were realized with seven day intervals (T1, T2, T3). After each day of treatment, the specimens were stored in artificial saliva. Dental shade was measured using spectrophotometer (VITA Easyshade) and CIE L\*a\*b\* system before treatment beginning (T0) and 7 days after finishing treatment (T4). SRI was measured by two raters (R1, R2) using optical reflectometer at T0, T1, T2, T3 and T4. Enamel surface roughness (Ra, RMS) and NH (GPa) were evaluated with an atomic force microscope and nanoindenter (Asylum Research) at T4. Multiple comparisons among groups were assessed by Kruskal-Wallis and Dunn-Bonferroni post hoc tests. Inter-rater agreement was evaluated by Intraclass Correlation Coefficient (ICC). Multiple comparisons for SRI according to moments of evaluation for each group were assessed by Friedman and Dunn-Bonferroni post hoc tests. Correlation between variables was accessed by Pearson correlation test. For Ra (p = 0.007), RMS (p = 0.018), shade (p = 0.016) and SRI (p = 0.009) significant differences between groups were found. For NH (p = 0.920) no significant difference among groups was found. After Dunn-Bonferroni adjustment, significant differences between G1 and G5 for Ra (p = 0.033) and SRI (p = 0.004) at T4 were found. There was an excellent inter-rater agreement (ICC = 0.873, Confidence Interval 95% = 0.828/0.905). Considering times of SRI evaluation, no significant difference between T0 and T4 was found for all groups. SRI presented a moderate negative correlation with Ra (r = -0.602) and RMS (r = -0.501). It was concluded that Colgate Sensitive Pro-Relief applied after dental bleaching showed higher roughness and lower SRI than control group. For the other groups, the desensitizing toothpaste applied before or after dental bleaching did not interfere in NH, roughness, shade and SRI of enamel. Optipen 2 reflectometer provided excellent inter-rater agreement. SRI did not change after bleaching and desensitizing toothpaste application with storage in artificial saliva and has inverse correlation with enamel roughness.

**Keywords:** Dental enamel. Dentin sensitivity. Tooth bleaching. Dentifrices.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### METODOLOGIA EXPANDIDA

FIGURA 1 –	Demarcação da área experimental.....	22
FIGURA 2 –	Corte da área experimental.....	23
FIGURA 3 –	Embutimento do espécime.....	23
FIGURA 4 –	Remoção do espécime da matriz de PVC.....	24
FIGURA 5 –	Planificação e polimento do espécime.....	24
FIGURA 6 –	Polimento do espécime com pasta e disco de feltro.....	25
FIGURA 7 –	Banho em cuba ultrassônica.....	25
FIGURA 8 –	Agente clareador.....	27
FIGURA 9 –	Dentifrícios dessensibilizantes.....	28
FIGURA 10 –	Quantidade de cada dentifrício proporcionado em medidor: A) Colgate Sensitive Pró-alívio; B) Sensodyne Repair & Protect; C) Elmex Sensitive.....	29
FIGURA 11 –	Aplicação do dentifrício dessensibilizante com taça de borracha por 60 segundos.....	29
FIGURA 12 –	Agente clareador: A) Proporção de três gotas de peróxido para uma gota de espessante; B) Mistura homogênea.....	30
FIGURA 13 –	Agente clareador sobre o espécime.....	30
FIGURA 14 –	Remoção do agente clareador: A e B) Aspiração; C) Lavagem com água destilada; D) Secagem.....	31
FIGURA 15 –	Armazenamento em saliva artificial: A) Inserção da saliva; B) Frasco com espécime imerso em saliva.....	32
FIGURA 16 –	Resumo de tempos de tratamento e medida dos desfechos....	32
FIGURA 17 –	Calibração do VITA Easyshade Advance 4.0.....	33
FIGURA 18 –	Reflectômetro: A) Componentes do instrumento montado; B) Esquema óptico e princípio de medição.....	34
FIGURA 19 –	Mensuração da refletividade da superfície de esmalte: A e B) Posicionamento do espécime sob a emissão de laser diodo do reflectômetro; C) Tela do <i>software</i> acoplado ao dispositivo.....	35

FIGURA 20 –	Espécime posicionado em Microscópio de Força Atômica.....	36
-------------	---	----

## **ARTIGO 1**

FIGURE 1 –	Representative three-dimensional images of surface roughness at T4 for each group: A) G1; B) G2; C) G3; D) G4; E) G5; F) G6; G) G7.....	54
------------	---	----

## **ARTIGO 2**

FIGURE 1 –	Bland-Altman plot for inter-rater agreement of surface reflection intensity (SRI) values for rater 1 (R1) and rater 2 (R2). R1–R2 indicates the difference in SRI values between the raters; average of R1 and R2 indicates the average of SRI values between raters.....	68
FIGURE 2 –	Behavior of surface reflection intensity (SRI) values in each moment of evaluation (T0, T1, T2, T3, T4), according to groups. B = immediately after bleaching; D= immediately after desensitizing toothpaste application.....	69

## LISTA DE TABELAS

### METODOLOGIA EXPANDIDA

Tabela 1 – Descrição do agente clareador, dos dentifrícios dessensibilizantes e seus modos de uso.....	26
--	----

### ARTIGO 1

Table 1 – Description of bleaching agent, desensitizing toothpastes and their modes of use.....	55
Table 2 – Median and interquartile range of enamel surface shade ( $\Delta E$ ), surface reflection intensity (SRI), surface roughness (Ra and RMS) and nanohardness according to experimental groups.....	56
Table 3 – Median and interquartile range for surface reflection intensity (SRI) at T0 and T4.....	56
Table 4 – Median and interquartile range for L* and b* parameters at T0 and T4.....	56

### ARTIGO 2

Table 1 – Description of bleaching agent, desensitizing toothpastes and their modes of use .....	70
Table 2 – Median and interquartile range of enamel surface reflection intensity (SRI), according to moments of evaluation.....	71
Table 3 – Pearson correlation between surface reflection intensity (SRI) at T4 and shade (L*, b*) and roughness (Ra, RMS) at T4.....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCI	Coeficiente de Correlação Intraclasse
HD	Hipersensibilidade Dentinária
ICC	Intraclass Correlation Coefficient
SRI	Refletividade Superficial
SRI	Surface Reflection Intensity
Ra	Rugosidade Média
Ra	Roughness for Arithmetic Average Height Parameter
RMS	Rugosidade Média Quadrática
RMS	Roughness for Root Mean Square Parameter

## SUMÁRIO

1	<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS</b> .....	14
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	20
2.1	Objetivo geral.....	20
2.2	Objetivos específicos.....	20
3	<b>METODOLOGIA EXPANDIDA</b> .....	21
3.1	Delineamento do estudo.....	21
3.2	Amostragem, aleatorização e grupos experimentais.....	21
3.3	Preparo dos espécimes.....	22
3.4	Procedimentos de clareamento e aplicação de dentifrícios dessensibilizantes.....	25
3.5	Mensuração de cor .....	33
3.6	Mensuração da refletividade superficial (SRI) de esmalte.....	34
3.7	Testes de rugosidade superficial e nanodureza .....	35
3.8	Análise estatística.....	36
4	<b>ARTIGOS</b> .....	38
4.1	Artigo 1.....	39
4.2	Artigo 2.....	57
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	73
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	75

## 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O clareamento dental é um procedimento estético conservador e não invasivo que pode ser associado a outros procedimentos odontológicos (LUQUE-MARTINEZ *et al.*, 2016). Por promover homogeneidade de cor dos dentes, é, muitas vezes, o procedimento de primeira escolha no planejamento de remodelação do sorriso, além de ser uma técnica de baixo custo e que não inviabiliza outras opções de tratamento (MARAN *et al.*, 2018). A composição padrão dos agentes clareadores é o peróxido de hidrogênio ou o peróxido de carbamida. Como o peróxido de carbamida decompõe-se em peróxido de hidrogênio, esses agentes clareadores atuam pelo mesmo mecanismo de ação (LUQUE-MARTINEZ *et al.*, 2016).

A permeabilidade é uma característica dentária que torna viável o clareamento, pois permite a difusão do oxigênio pelo esmalte e pela dentina para agir sobre as estruturas orgânicas do dente e, assim clareá-lo (MARKOWITZ, 2010). O oxigênio (radical livre) possui baixo peso molecular e penetra através do esmalte e da dentina, alcançando os pigmentos que provocam as alterações de cor. Os pigmentos são cadeias longas de alto peso molecular (macromoléculas) difíceis de serem eliminados da estrutura dental. Com o clareamento, o oxigênio promove a quebra dessas macromoléculas por meio da reação de oxidação em cadeias menores e de cor mais clara, que são total ou parcialmente eliminadas por um processo de difusão (KWON e WERTZ, 2015).

A concentração e o tempo de uso do agente clareador estão diretamente relacionados aos efeitos adversos do clareamento dental. O peróxido de hidrogênio em altas concentrações (25 a 37%) está normalmente associado à maior prevalência de hipersensibilidade dental (HD) transitória, é cáustico aos tecidos moles e requer cuidado na proteção da gengiva. Por outro lado, os agentes clareadores em baixas concentrações (10%, 16%) geralmente provocam sensibilidade dental transitória de menor intensidade e, algumas vezes, irritação gengival (BARATIERI *et al.*, 2017). Além disso, o clareamento dental comumente está associado a efeitos colaterais na superfície do esmalte e da dentina (KLARIĆ *et al.*, 2013).



Géis clareadores com baixo pH aumentam o risco de maior solubilidade de cálcio e fosfato no esmalte (ZANOLLA *et al.*, 2017). Entretanto, a literatura é controversa ao afirmar que podem acontecer alterações na micromorfologia, na composição química, na dureza, na rugosidade de superfície e na opalescência do esmalte, principalmente devido às diferenças entre os estudos em relação a metodologias, protocolos de clareamento, substrato dental (humano ou bovino), teste de dureza, condições de armazenamento, uso de substâncias remineralizantes, pH e concentração de produtos clareadores (ATTIN *et al.*, 2009; JOINER, 2007). Estudos mostraram redução da microdureza e da nanodureza de esmalte com peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida em concentrações variadas, ausência de alteração da nanodureza e da microdureza com peróxido de hidrogênio em altas concentrações, assim como aumento ou ausência de alteração da rugosidade de superfície com peróxido de hidrogênio 35% (ABE *et al.*, 2015; ALENCAR *et al.*, 2017; BUCHALLA *et al.*, 2007; CHINA *et al.*, 2014; CUNHA *et al.*, 2018; JOINER *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2018; PINTO *et al.*, 2004; POLYDOROU *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2013; ZANTNER *et al.*, 2007).

As alterações da superfície de esmalte são prejudiciais, visto que maior rugosidade da superfície de esmalte, por exemplo, pode contribuir para o aumento da adesão de micro-organismos e de pigmentos sobre a estrutura dental (KIM *et al.*, 2011; MEI *et al.*, 2011). Assim, para obter um efeito clareador mais duradouro e eficaz, é essencial que o esmalte danificado seja recuperado após o clareamento (CHINA *et al.*, 2014).

Outro efeito adverso associado ao clareamento é a HD, queixa comum principalmente nas primeiras 24 horas após o tratamento. Geralmente, a HD é associada à alta concentração de peróxidos, que causam a ativação dos receptores neurais, e aos defeitos microscópicos na superfície do esmalte (ATTIN *et al.*, 1997; CAREY, 2014; MARKOWITZ, 2010; MONCADA *et al.*, 2013; SOUTO-MAIOR *et al.*, 2019). É o efeito adverso de detecção clínica mais comum. Pode afetar de 10% a 100% dos pacientes submetidos ao clareamento, independentemente da concentração do peróxido e do protocolo clareador, e pode levar à interrupção do tratamento com conseqüente comprometimento de seus resultados (BONAFÉ *et al.*, 2014; KIELBASSA *et al.*, 2015; KOSSATZ *et al.*, 2012; LUQUE-MARTINEZ *et al.*,

2016; MARAN *et al.*, 2018; SERRAGLIO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2015; SOUTO-MAIOR *et al.*, 2019).

Dentre as teorias utilizadas para explicar os mecanismos de HD, a mais aceita é a teoria hidrodinâmica, a qual afirma que a dor é causada pela ativação de mecanorreceptores em nervos intratubulares ou na polpa superficial devido a alterações no fluxo e/ou no volume de fluido no interior dos túbulos dentinários (BRÄNNSTRÖM e ASTROM, 1964). Entretanto, como a HD pode afetar mesmo dentes intactos após o clareamento, a teoria hidrodinâmica não explica todas as formas de HD (MARKOWITZ, 2010). As hipóteses apresentadas para sensibilidade pós-clareamento consideram que o peróxido penetra na estrutura dentária e causa ativação neural direta dos receptores da dor; ou que essa penetração provoca inflamação pulpar e danos às células pulpares, como uma pulpíte reversível, com a presença de mediadores inflamatórios como as prostaglandinas, que excitam e sensibilizam nociceptores pulpares e causam a sensibilidade; ou que bolhas de oxigênio se formam nos túbulos dentinários durante a aplicação de peróxido e causam movimentos de fluidos dentinários que ativam os nervos intradentais (ATTIN *et al.*, 2006; KIELBASSA *et al.*, 2015; MARKOWITZ, 2010; SOARES e GRIPPO, 2017).

As opções para tratamento e alívio de dor provocada pela HD atuam diminuindo a permeabilidade da dentina ou reduzindo a resposta neural desencadeada pelos estímulos tradicionais (SHARIF *et al.*, 2013). As intervenções terapêuticas incluem a vedação direta de túbulos dentinários expostos ou de trincas de esmalte (por adesivos dentinários, resinas compostas e cimentos), fotobiomodulação (emprego de laser - Nd:YAG laser, Er:YAG, CO<sub>2</sub>, GaALAS), aplicação de substâncias dessensibilizantes de ação neural (nitrato de potássio, oxalato de potássio) ou de ação obliteradora (arginina, fosfosilicato de cálcio e sódio, acetato de estrôncio) (MORASCHINI *et al.*, 2018; SOARES e GRIPPO, 2017).

Os agentes dessensibilizantes podem estar presentes em produtos de aplicação tópica profissional, dentifrícios e colutórios. Escovação com dentifrício dessensibilizante é, muitas vezes, a primeira terapia de escolha, já que é de fácil acesso, uso frequente e pode proporcionar alívio significativo da HD após o clareamento (ZHU *et al.*, 2015).

O flúor é capaz de contribuir na reparação dos defeitos microestruturais da superfície dental pela absorção e precipitação de cálcio e fosfato presentes na saliva. Um estudo *in vitro* mostrou que não houve diferença de rugosidade superficial entre os grupos tratados com flúor neutro ou flúor fosfato acidulado após o clareamento dental, mas a ausência de tratamento com flúor durante o clareamento foi associada a uma redução da microdureza média de esmalte (CHINA *et al.*, 2014). Da mesma forma, a aplicação tópica de dentifrício com alta concentração de flúor (5000 ppm de flúor) após o clareamento promoveu aumento da microdureza e redução da rugosidade de esmalte, sem comprometimento do efeito clareador (CUNHA *et al.*, 2018). Além disso, a aplicação de um remineralizante anterior ao clareamento dental reduz a difusão do peróxido de hidrogênio através do esmalte e da dentina até a câmara pulpar e pode minimizar seus efeitos deletérios e a HD (CUNHA *et al.*, 2018; LOGUERCIO *et al.*, 2015). Gjorgievska e Nicholson (2015) mostraram que materiais bioativos são capazes de aumentar o conteúdo de cálcio e fosfato no esmalte danificado pelos agentes clareadores.

Dentifrícios dessensibilizantes combinam a ação do flúor com o potencial remineralizante. Porém, apesar da ampla informação disponível, ainda existe controvérsia se o uso de agentes dessensibilizantes associados ao tratamento clareador possui efeito significativo na proteção do esmalte e da dentina clareados (PINTADO-PALOMINO e TIRAPELLI, 2015).

Embora muitos produtos tenham sido desenvolvidos para remineralizar as estruturas dentárias e obstruir os túbulos dentinários, os efeitos são comumente temporários e a HD se repete quando as substâncias são removidas pelos desafios erosivos diários da dieta (CHEN *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2011). Com objetivo de contornar essa limitação, foram desenvolvidos dentifrícios dessensibilizantes à base de arginina (Pro-argin), que atuam por mineralização da dentina exposta e selamento da abertura dos túbulos dentinários (SHARIF *et al.*, 2013). Com objetivo semelhante, há a alternativa remineralizadora à base de fosfosilicato de cálcio e sódio (NovaMin), que consiste em um composto inorgânico amorfo classificado como vidro bioativo, que sofre reações químicas quando em contato com uma solução aquosa e resulta na formação de camada mineralizada na superfície dentinária (CHEN *et al.*, 2015; RAJESH *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2011).

A capacidade de formação de complexos minerais sobre a dentina e de oclusão de túbulos dentinários proporcionados por Pro-argin e NovaMin tem sido relatada na literatura (CHEN *et al.*, 2015; KULAL *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2011). Em estudo *in vitro*, agente dessensibilizante à base de NovaMin foi comparado a fluoreto (5000 ppm) em ciclos de desmineralização/remineralização. Observou-se aumento na microdureza de esmalte com o uso de ambos e que a combinação de das substâncias (flúor e NovaMin) pode proporcionar efeito sinérgico na remineralização do esmalte (GOLPAYEGANI *et al.*, 2012).

Estudos *in vitro* têm mostrado que agentes dessensibilizantes associados ao clareamento dental não afetam a rugosidade de esmalte e dentina (PINTADO-PALOMINO e TIRAPELLI, 2015). No estudo de Kutuk *et al.* (2019), a microdureza de esmalte reduziu para a maioria dos grupos testados um dia após clareamento associado a agentes dessensibilizantes e aumentou 14 dias após, com armazenamento em saliva artificial, para todos os grupos. Quando dentifrícios à base de nitrato de potássio, Pro-argin e NovaMin foram aplicados previamente ao clareamento dental, as mudanças de cor foram semelhantes em todos grupos, a microdureza superficial diminuiu no grupo apenas clareado, a microdureza aumentou nos grupos tratados com todos os dentifrícios (NovaMin > Pro-argin) e a rugosidade aumentou nos grupos clareados, com exceção do grupo NovaMin (VIEIRA-JUNIOR *et al.*, 2016).

Além dos benefícios na superfície de esmalte, estudos clínicos e revisões sistemáticas apontam que, quando comparados com produtos controles, Pro-argin e NovaMin são efetivos no alívio da sintomatologia dolorosa da HD decorrente da exposição de túbulos dentinários, o que sugere que esses agentes dessensibilizantes têm potencial para alívio de HD decorrente de clareamento dental (SHARIF *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2015). Pro-argin proporcionou maior eficácia na redução de HD do que o estrôncio (MAGNO *et al.*, 2015). NovaMin mostrou melhor resposta clínica, em comparação ao nitrato de potássio, quanto à eficácia na redução de HD (MAJJI e MURTHY, 2016). Estudos clínicos que promoveram a comparação entre Pro-argin e NovaMin, porém, apresentaram resultados distintos. Jena e Shashiekha (2015) analisaram pastas à base de NovaMin, Pro-argin e nanohidroxiapatita com aplicação única em consultório e verificaram que nanohidroxiapatita foi mais efetiva, seguida por Pro-argin e depois por NovaMin, nos

testes de sensibilidade tátil e de sensibilidade ao ar. Na pesquisa de Samuel *et al.* (2015), Pro-argin produziu significativa redução de HD quando comparada com Gluma e com NovaMin. NovaMin produziu maior redução de HD que Pro-argin no estudo de Penmetsa *et al.* (2016). Nesse sentido, uma revisão sistemática e metanálise mostrou que não há diferença de efeito na redução de HD para dentifrícios à base de Pro-argin e de NovaMin e, assim, ambos podem ser prescritos, com equivalência de efeito, para tratamento de HD (ARANTES *et al.*, 2019).

A possível perda de minerais do esmalte também pode ser inferida por um dispositivo óptico chamado “refletômetro”, desenvolvido para monitorar a corrosão de esmalte em comparação com esmalte polido (RAKHMATULLINA *et al.*, 2013). O princípio básico do refletômetro é medir a refletividade do esmalte, adotando como premissa que superfícies mais planas devem produzir valores mais altos de refletividade, enquanto superfícies com maior corrosão devem produzir valores mais baixos de refletividade (CARVALHO *et al.*, 2016). Por isso, acredita-se que a medida de refletividade pode ser útil para estimar a rugosidade da superfície de esmalte, como a provocada pelo clareamento dental, inclusive clinicamente.

Estudos prévios avaliaram, separadamente, os efeitos da aplicação de dentifrícios dessensibilizantes antes ou após o clareamento dental sobre as propriedades de cor, rugosidade e dureza de esmalte. Até o momento, porém, não foram identificados estudos que comparem essas propriedades e a refletividade de esmalte, considerando simultaneamente os momentos (antes ou após) de aplicação de dentifrícios dessensibilizantes em relação às sessões de clareamento dental.

## 2 OBJETIVOS

### 2

#### .1 Objetivo geral

Analisar, *in vitro*, o efeito da aplicação de dentifrícios dessensibilizantes antes ou após clareamento dental nas propriedades de cor, refletividade, rugosidade e nanodureza da superfície de esmalte.

#### 2.2 Objetivos específicos

- avaliar se o uso de dentifrícios dessensibilizantes associados ao clareamento dental altera a cor, a refletividade, a rugosidade e a nanodureza da superfície do esmalte.

- avaliar se o momento de aplicação dos dentifrícios dessensibilizantes (antes ou após as sessões de clareamento) interfere na cor, na refletividade, na rugosidade e na nanodureza da superfície do esmalte.

- comparar o efeito de diferentes dentifrícios dessensibilizantes associados ao clareamento dental na cor, na refletividade, na rugosidade e na nanodureza da superfície do esmalte.

- avaliar a concordância interexaminadores para as mensurações de refletividade do esmalte.

- avaliar o efeito do clareamento e da aplicação de dentifrícios dessensibilizantes sobre a refletividade do esmalte ao longo do tratamento.

- verificar se há correlação entre a refletividade final do esmalte após tratamento clareador e uso de dentifrícios dessensibilizantes com as características de rugosidade superficial e cor dental.

### 3 METODOLOGIA EXPANDIDA

#### 3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo experimental *in vitro* cujas unidades experimentais foram constituídas por 42 espécimes de dentes bovinos aleatoriamente alocados em sete blocos incompletos ( $n = 6$ ). As variáveis independentes analisadas foram: dentifrícios dessensibilizantes (Sensodyne Repair & Protect, GSK; Colgate Sensitive Pró-alívio, Colgate-Palmolive; e Elmex Sensitive, Colgate-Palmolive); e momento de aplicação dos dentifrícios (antes ou após as sessões de clareamento dental). As variáveis dependentes foram: cor ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ), refletividade de esmalte, rugosidade de superfície (Ra e RMS) e nanodureza (Gigapascal – GPa).

#### 3.2 Amostragem, aleatorização e grupos experimentais

Inicialmente, os espécimes foram numerados de 1 a 42. Em seguida, os espécimes foram divididos em sete grupos ( $n = 6$ ) de acordo com o agente dessensibilizante utilizado e o momento de aplicação do dentifrício (antes ou após as sessões de clareamento dental), por sorteio totalmente aleatório por meio do *software* Excel (Microsoft), usando a função =ALEATÓRIO(), conforme os grupos discriminados a seguir:

G1: Controle, clareado e armazenado em saliva artificial

G2: Sensodyne Repair & Protect + clareamento dental

G3: Clareamento dental + Sensodyne Repair & Protect

G4: Colgate Sensitive Pró-alívio + clareamento dental

G5: Clareamento dental + Colgate Sensitive Pró-alívio

G6: Elmex Sensitive + clareamento dental

G7: Clareamento dental + Elmex Sensitive

Os espécimes foram, então, divididos em sete blocos incompletos totalmente aleatórios ( $n = 6$ ) para determinação da sequência experimental e das análises posteriores, por meio do *software* Excel (Microsoft), usando a função =ALEATÓRIO().

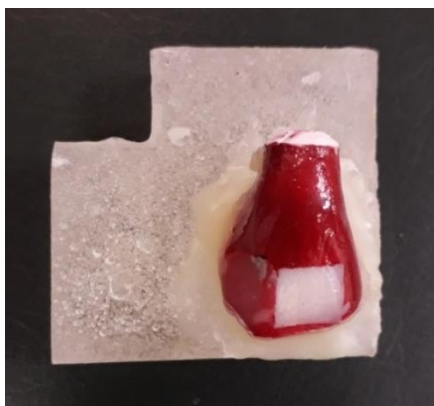
### 3.3 Preparo dos espécimes

Coroas de incisivos bovinos foram separadas das raízes com disco adiantado em cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA), limpas com lâmina de bisturi para remoção de tecidos moles e com aparelho de ultrassom odontológico (Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) para remoção de cálculo. Em seguida, foram armazenadas em solução de timol 0,1% a 5°C por sete dias e mantidas em água destilada até o momento do uso.

A área experimental dos espécimes foi constituída por blocos de esmalte e dentina de 36 mm<sup>2</sup> obtidos do terço médio da superfície vestibular das coroas dentais por meio de cortadeira metalográfica de precisão com disco adiantado (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) (FIGURAS 1 e 2).

Cada espécime foi centralmente posicionado em uma matriz de tubo de PVC, com 1 cm de altura e 2 cm de diâmetro, o qual foi preenchido com resina de poliéster (Cristal 5061, Casa da Resina e do Silicone, Belo Horizonte, MG, Brasil) sobre a superfície plana de uma placa de vidro, para embutimento (FIGURA 3).

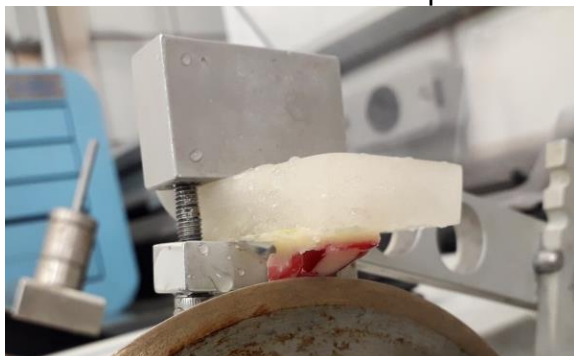
FIGURA 1 – Demarcação da área experimental



Fonte: Do autor, 2019.



FIGURA 2 – Corte da área experimental



Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 3 – Embutimento do espécime



Fonte: Do autor, 2019.

Após o tempo de presa da resina (aproximadamente 24 horas), os espécimes foram separados da matriz de PVC, planificados com lixa de carbeto de silício de granulações #600 e #1000 (Norton Agua Advance, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, SP, Brasil) em polidora metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, SP, Brasil), sob refrigeração, a fim de padronizar a superfície de esmalte (FIGURAS 4 e 5).

FIGURA 4 – Remoção do espécime da matriz de PVC



Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 5 – Planificação e polimento do espécime



Fonte: Do autor, 2019.

Em seguida, os espécimes foram lavados com água destilada, por cinco segundos, polidos com pasta de polimento de óxido de alumínio (Diamond excel, FGM, Joinville, SC, Brasil) e disco de feltro, por 30 segundos, e colocados em banho ultrassônico por 10 minutos (FIGURAS 6 e 7).

FIGURA 6 – Polimento do espécime com pasta e disco de feltro



Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 7 – Banho em cuba ultrassônica



Fonte: Do autor, 2019.

### 3.4 Procedimentos de clareamento e aplicação de dentifrícios dessensibilizantes

O agente clareador (FIGURA 8), os dentifrícios dessensibilizantes (FIGURA 9) e seus modos de uso estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1 – Descrição do agente clareador, dos dentifrícios dessensibilizantes e seus modos de uso.**

<b>Produto</b>	<b>Nome comercial (Fabricante)</b>	<b>Composição</b>	<b>Modo de uso</b>
Agente clareador	Whiteness HP (FGM, Joinville, SC, Brasil)	Peróxido de hidrogênio 35%	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Misturou-se a fase peróxido com a fase espessante na proporção de 3 gotas de peróxido para 1 gota de espessante</li> <li>2. Com uma espátula, a superfície do espécime foi completamente coberta com uma camada de gel</li> <li>3. Três aplicações de 15 minutos cada, por sessão, foram realizadas</li> <li>4. O gel foi movimentado 3 vezes sobre a superfície do espécime para liberar as bolhas de oxigênio geradas e promover o melhor contato possível do gel com o dente</li> </ol>
Dentifrício	Sensodyne Repair & Protect (GSK, São Paulo, SP Brasil)	Fluoreto de sódio (1426ppm), <b>Fosfosilicato de cálcio e sódio (5%) (NovaMin)</b> , Glicerina, Polietilenoglicol-8, Sílica hidratada, Aroma, Dióxido de titânio, Carbômero, Cocamidopropil Betaína, Metil cocoil taurato de sódio, Sacarina sódica	Volume padronizado do dentifrício foi aplicado na superfície do espécime, em baixa rotação, por 60 segundos

Dentifrício	Colgate Sensitive Pró-alívio (Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brasil)	Carbonato de cálcio, Água, Sorbitol, <b>Bicarbonato de Arginina (8%)</b> , Lauril sulfato de sódio, Monofluorofosfato de sódio (1450 ppm), Aroma, Goma de celulose, Bicarbonato de sódio, Acessulfame de potássio, Silicato de sódio, Goma xantana, Sucralose, Dióxido de titânio	Volume padronizado do dentifrício foi aplicado na superfície do espécime, em baixa rotação, por 60 segundos
Dentifrício	Elmex Sensitive (Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brasil)	Água, Carbonato de cálcio, Sorbitol, <b>Bicarbonato de Arginina</b> , Sílica hidratada, Lauril sulfato de sódio, Aroma, Monofluorofosfato de sódio (1450 ppm), Goma de celulose, Bicarbonato de Sódio, Pirofosfato tetrasódio, Fosfato tricálcio, Sacarina sódica, Álcool benzílico, Goma xantana, Limonemo	Volume padronizado do dentifrício foi aplicado na superfície do espécime, em baixa rotação, por 60 segundos

FIGURA 8 – Agente clareador



Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 9 – Dentifrícios dessensibilizantes



Fonte: Do autor, 2019.

Para os grupos 2, 4 e 6, em cada sessão, o dentifrício dessensibilizante foi aplicado sobre a superfície de esmalte com o emprego de taça de borracha, em baixa velocidade, por 60 segundos. Imediatamente após, os espécimes eram lavados, secos e iniciava-se o tratamento clareador. Para os grupos 3, 5 e 7, os espécimes foram submetidos ao tratamento clareador, lavados, secos e, imediatamente após cada sessão, o dentifrício dessensibilizante foi aplicado sobre a superfície de esmalte com o emprego de taça de borracha, em baixa velocidade, por 60 segundos. Para o grupo 1, os espécimes foram submetidos apenas ao tratamento clareador.

A quantidade de dentifrício dessensibilizante foi padronizada, em volume, para todos os dentifrícios por meio de medidor, de forma que cada espécime recebeu a mesma quantidade de dentifrício (FIGURAS 10 e 11).

FIGURA 10 – Quantidade de cada dentifrício proporcionado em medidor: A) Colgate Sensitive Pró-alívio; B) Sensodyne Repair & Protect; C) Elmex Sensitive



Fonte: Do autor, 2019.

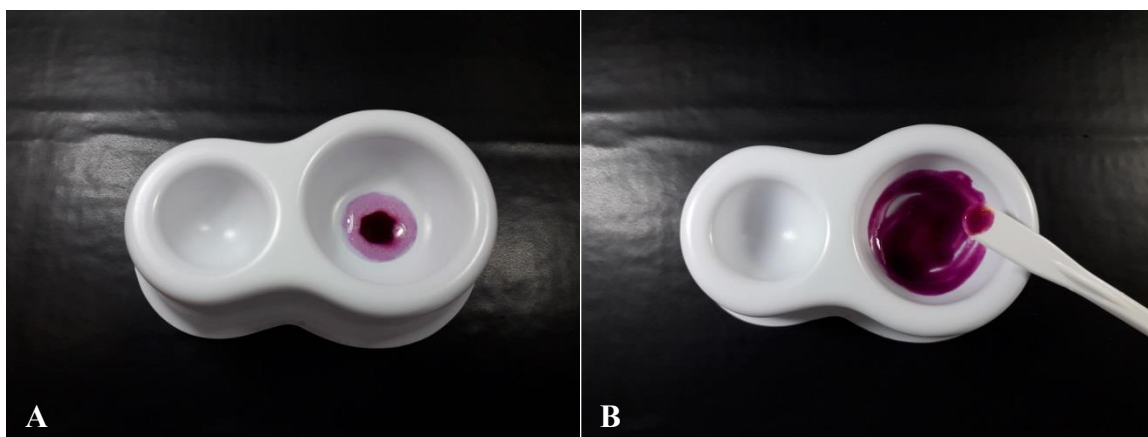
FIGURA 11 – Aplicação do dentifrício dessensibilizante com taça de borracha por 60 segundos



Fonte: Do autor, 2019.

Cada sessão de clareamento consistiu em três aplicações de peróxido de hidrogênio, manipulado na proporção de três gotas de peróxido para uma gota de espessante até mistura homogênea, por 15 minutos (FIGURA 12). Cada mistura nessa proporção foi dividida em duas partes e aplicada em dois espécimes, de modo que cada espécime recebeu aproximadamente a mesma quantidade de agente clareador (FIGURA 13).

FIGURA 12 – Agente clareador: A) Proporção de três gotas de peróxido para uma gota de espessante; B) Mistura homogênea



Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 13 – Agente clareador sobre o espécime



Fonte: Do autor, 2019.

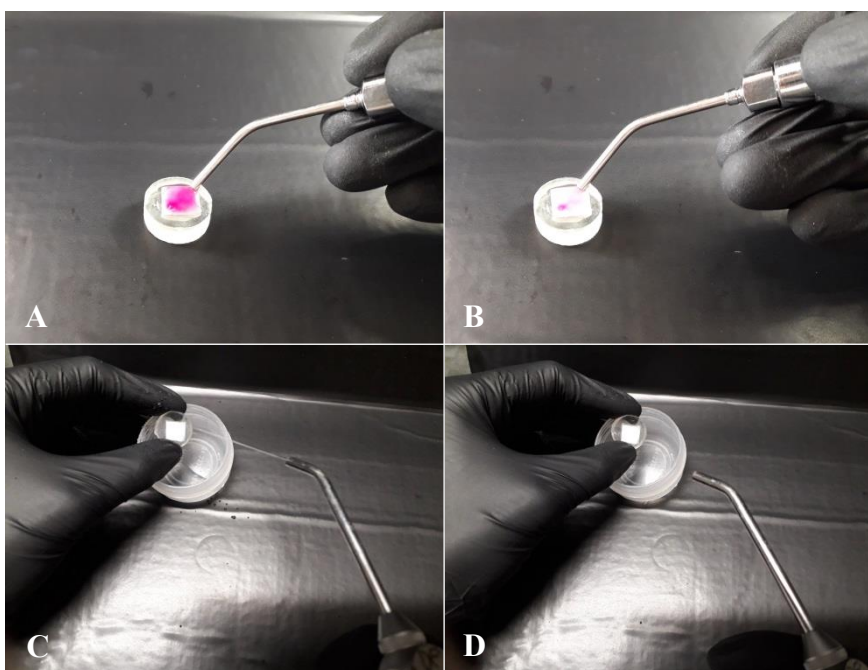
Para todos os grupos, as três sessões de clareamento foram realizadas com intervalos de sete dias em T1, T2 e T3. Entre cada sessão de clareamento, o produto clareador foi aspirado com cânula de aspiração metálica, os espécimes foram lavados com água destilada por 10 segundos e secos com ar comprimido por 10 segundos (FIGURA 14). Após a aplicação do dentífrico dessensibilizante, os espécimes também foram lavados com água destilada por 10 segundos e secos com ar de seringa tríplice por cinco segundos.



Para todos os grupos, após cada dia de tratamento, os espécimes foram armazenados em 2 ml de saliva artificial (0.96g KCl, 0.67g NaCl, 0.04g MgCl<sub>2</sub>, 0.27g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.12g CaCl<sub>2</sub>, 0.1g nipagin, 8g Carboxymethylcellulose, 24g sorbitol, 1000 ml de água bidestilada) (Lenzafarm, Belo Horizonte, MG, Brasil), de forma a cobrir todo o espécime com a superfície de esmalte voltada para cima, e mantidos em estufa a 37°C (FIGURA 15).

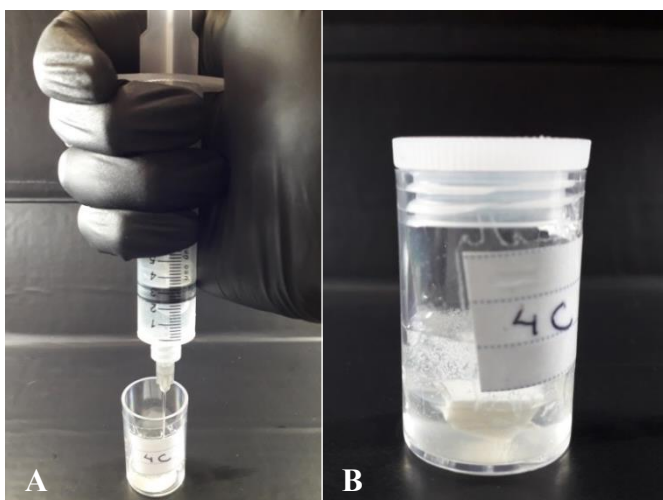
Após as três sessões de clareamento (T1, T2 e T3), o tratamento foi concluído, todos os espécimes foram armazenados em 2 ml de saliva artificial e mantidos em estufa a 37°C por mais sete dias (T4). A sequência de dias de tratamento dos espécimes foi organizada segundo os blocos experimentais. Todos os procedimentos de clareamento e de aplicação de dentifrícios dessensibilizantes foram realizados por um único operador. A Figura 16 apresenta um resumo dos tempos de tratamento e das medidas dos desfechos.

FIGURA 14 – Remoção do agente clareador: A e B) Aspiração; C) Lavagem com água destilada; D) Secagem



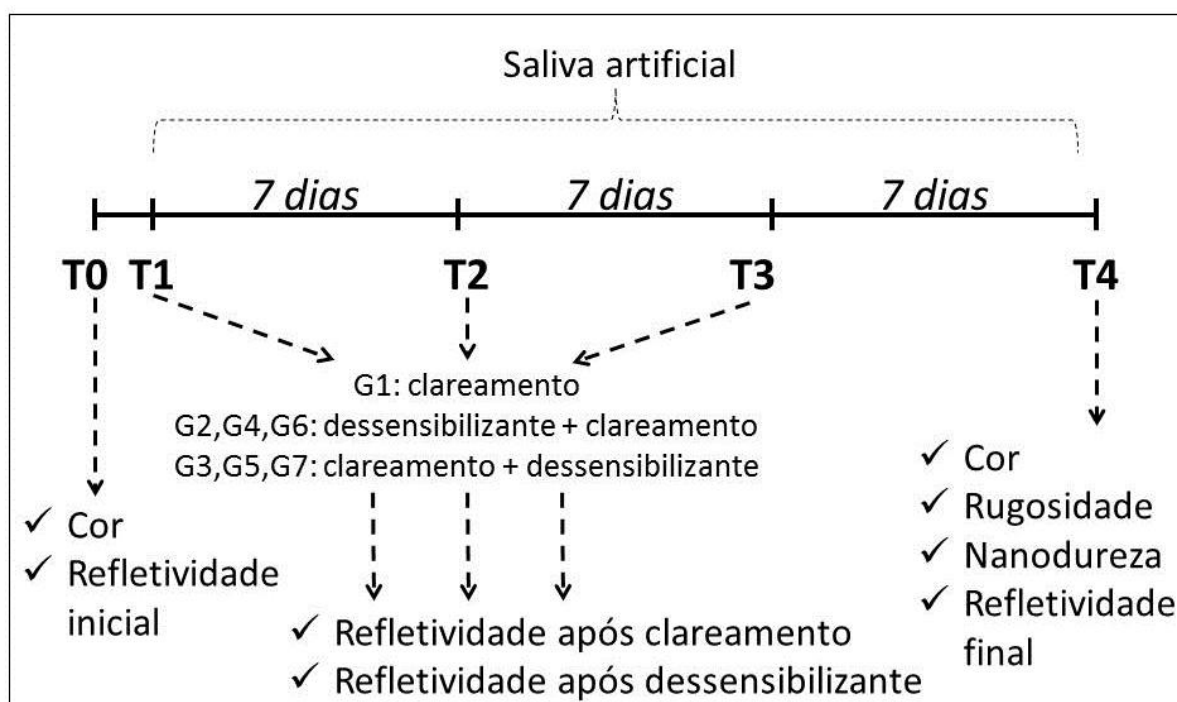
Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 15 – Armazenamento em saliva artificial: A) Inserção da saliva; B) Frasco com espécime imerso em saliva



Fonte: Do autor, 2019.

FIGURA 16 – Resumo de tempos de tratamento e medida dos desfechos



Fonte: Do autor, 2019.

### 3.5 Mensuração de cor

A leitura de cor de cada espécime foi realizada no interior de uma caixa, que permitiu a localização padronizada do espécime sob condição de luz ambiente artificial para todas as mensurações. A cor do espécime dental foi mensurada com o emprego do espectrofotômetro VITA Easyshade Advance 4.0 (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Baden-Württemberg, Alemanha) antes de qualquer tratamento (T0) e após o término dos tratamentos (T4). Antes de iniciar a mensuração de cada bloco de espécimes, o espectrofotômetro foi calibrado de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante (FIGURA 17).

FIGURA 17 – Calibração do VITA Easyshade Advance 4.0



Fonte: Do autor, 2019.

Foi adotado o espectro baseado no sistema CIE  $L^*a^*b^*$ , em que  $L^*$  representa a luminosidade (branco-preto),  $a^*$  representa o componente vermelho-verde e  $b^*$  representa o componente amarelo-azul. Os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram obtidos separadamente em cada momento de mensuração da cor. As diferenças entre os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  dos tempos T0 e T4 foram registrados. A diferença de cor (T4 x T0) de cada espécime ( $\Delta E$ ) foi calculada pela equação  $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ , no *software* Excel.

### 3.6 Mensuração da refletividade superficial (SRI) de esmalte

A refletividade de superfície de cada espécime foi mensurada por reflectômetro óptico (Optipen 2 – protótipo desenvolvido na Universidade de Berna, Berna, Suíça), por dois operadores treinados, sendo um operador considerado padrão-ouro. As medidas de SRI foram realizadas em T0, T1, T2, T3 e T4. Este instrumento possui uma peça de mão que direciona um feixe de laser diodo de 635 nm para a superfície dental (FIGURA 18). A ponta do reflectômetro foi posicionada diretamente na superfície do esmalte de cada espécime e inclinada em vários ângulos até que o ponto de maior refletividade fosse registrado no *software* específico do equipamento, conectado a um notebook. Cada operador procurou um ponto de estabilidade do valor de refletividade próximo ao máximo de refletividade já encontrado e esse valor foi registrado pelo *software* acoplado ao dispositivo como a refletividade do espécime (FIGURA 19).

O valor de SRI não possui dimensão. Maior valor de SRI representa maior refletividade da superfície do esmalte, o que, teoricamente, corresponderia a uma superfície mais polida ou lisa do esmalte. Da mesma forma, um valor mais baixo de SRI corresponderia a uma superfície de esmalte mais rugosa. A média dos dois valores de SRI obtidos pelos dois operadores foi calculada e considerada como valor de SRI de cada amostra.

FIGURA 18 – Reflectômetro: A) Componentes do instrumento montado; B) Esquema óptico e princípio de medição

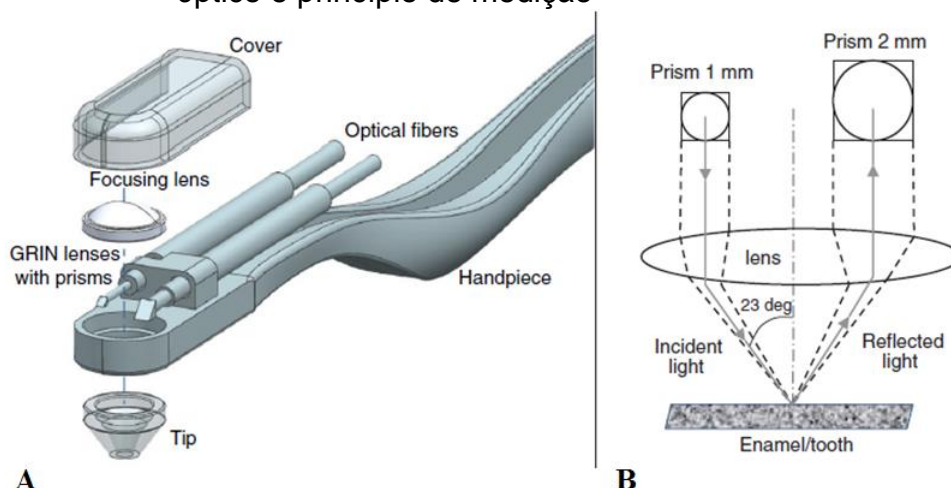
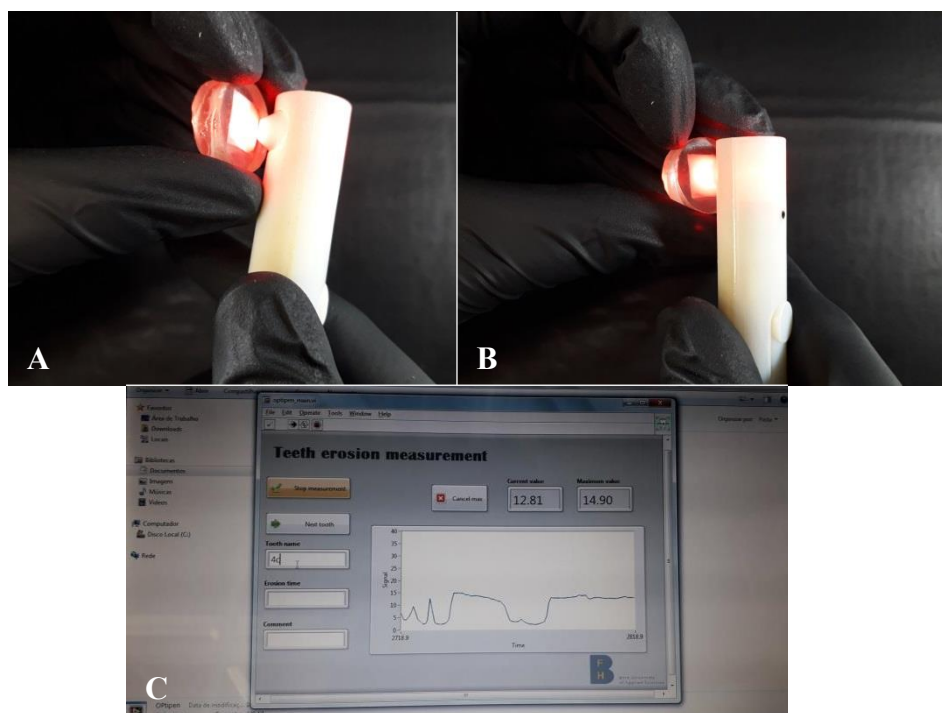


FIGURA 19 – Mensuração da refletividade da superfície de esmalte: A e B) Posicionamento do espécime sob a emissão de laser diodo do reflectômetro; C) Tela do *software* acoplado ao dispositivo



Fonte: Do autor, 2019.

### 3.7 Testes de rugosidade superficial e nanodureza

A nanodureza e a rugosidade superficial de esmalte foram avaliadas por meio de Microscópio de Força Atômica e Nanoindentação (MFP-3D-SA ASYLUM RESEARCH, Oxford Instruments, Abingdon, United Kingdom), em T4, para cada espécime (FIGURA 20).

Para o teste de rugosidade, a topografia dos espécimes foi analisada em três áreas bidimensionais de  $20 \times 20 \mu\text{m}^2$  e resolução de imagem de 512 pontos x 256 linhas de varredura *pixels*. Resultados de rugosidade foram medidos em parâmetros de rugosidade média (*arithmetic average height parameter* – Ra, nm) e rugosidade média quadrática (*root mean square parameter* - RMS, nm).

Para o teste de nanoindentação, foi aplicada carga de 2 mN e tempo de impressão de 10 segundos para carregar, cinco segundos com carga máxima e 10 segundos para descarregar. Dezesesseis pontos de indentação foram mensurados,

com 10  $\mu\text{m}$  de distância entre pontos, em uma área de 50 x 50  $\mu\text{m}^2$ , com ponta indentadora Berkovich, pirâmide de três lados. Os valores de nanodureza foram calculados a partir de curvas de força versus penetração, com mensuração reportada em GPa.

FIGURA 20 – Espécime posicionado em Microscópio de Força Atômica



Fonte: Do autor, 2019.

### 3.8 Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o *software* estatístico SPSS Statistics (Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp). Foi adotado nível de significância de 5%. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste de Levene foi utilizado para análise de homocedasticidade.

Comparações múltiplas dos valores médios de  $\Delta E$ , SRI, nanodureza, Ra e RMS foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo teste *post hoc* de Dunn-Bonferroni. A fim de verificar a presença de diferença entre os valores de  $L^*$ ,  $b^*$  e SRI obtidos nos tempos T0 e T4 para cada grupo, teste de Wilcoxon foi aplicado. Comparações múltiplas dos valores de  $L^*$  e  $b^*$  em T0 e T4, entre os grupos, foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis.

A concordância entre avaliador 1 e avaliador 2 na mensuração de SRI foi avaliada pelo Coeficiente de Correlação Intraclasse (CCI), considerando a concordância: pobre ( $CCI < 0,4$ ), satisfatória ( $0,4 \leq CCI < 0,75$ ) ou excelente ( $CCI \geq 0,75$ ), de acordo com os critérios de Fleiss (1986). Gráfico de Bland-Altman (BLAND e ALTMAN, 1986) foi elaborado para análise da magnitude de concordância/discordância entre avaliadores.

Comparações múltiplas intragrupos dos valores de médios de SRI entre os momentos de avaliação (T0, T1, T2, T3 e T4) foram realizadas pelo teste de Friedman e pelo teste *post hoc* de Dunn-Bonferroni. Comparações múltiplas intergrupos dos valores de médios de SRI em cada momento de avaliação foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo teste *post hoc* de Dunn-Bonferroni.

Análise de correlação de Pearson foi executada para avaliar se os valores de SRI em T4 estavam relacionados aos valores de Ra, RMS, L\* e b\* em T4.

#### **4 ARTIGOS**

Os capítulos resultados e discussão serão apresentados sob a forma de artigos científicos. O artigo 1 foi formatado segundo as normas do periódico “Journal of Dentistry”; fator de impacto: 3,280; Qualis CAPES: A1. O artigo 2 foi formatado segundo as normas para “brief report” do periódico “Lasers in Medical Science”, fator de impacto: 2,076; Qualis CAPES: A2.



#### 4.1 Artigo 1

### **Effect of desensitizing toothpastes applied before or after bleaching on enamel surface shade, reflection intensity, roughness and nanohardness**

#### **Short title: Effect of desensitizing toothpastes and bleaching on enamel surface**

Diandra Costa Arantes<sup>1</sup>, Fernanda Novais Arantes<sup>2</sup>, Francisco Ivison Rodrigues Limeira<sup>1</sup>, Cristiane Meira Assunção<sup>3</sup>, Monica Yamauti<sup>4</sup>, Allyson Nogueira Moreira<sup>5</sup>, Cláudia Silami de Magalhães<sup>5</sup>

<sup>1</sup> PhD student. Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>2</sup> Undergraduate student. Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>3</sup> Adjunct professor, Department of Child and Adolescent Oral Health, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>4</sup> Adjunct professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>5</sup> Full professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

#### **Author for correspondence**

Dr. Cláudia Silami de Magalhães

E-mail: silamics@yahoo.com

Telephone: 55 31 34092456

Av. Antônio Carlos, 6627. Campus Pampulha, CEP 31270-091, Belo Horizonte, MG, Brazil.

## **Effect of desensitizing toothpastes applied before or after bleaching on enamel surface shade, reflection intensity, roughness and nanohardness**

### **Abstract**

**Objectives:** To evaluate the effect of desensitizing toothpastes applied before or after dental bleaching (DB) on enamel shade, reflection intensity (SRI), roughness (Ra, RMS) and nanohardness (NH). **Methods:** 42 bovine incisors were divided into 7 groups (n=6) according to desensitizing toothpaste and moment of application (G1: control; G2: Sensodyne Repair&Protect + DB; G3: DB + Sensodyne Repair&Protect; G4: Colgate Sensitive Pro-Relief + DB; G5: DB + Colgate Sensitive Pro-Relief; G6: Elmex Sensitive + DB; G7: DB + Elmex Sensitive). Three bleaching sessions were held at 7-day intervals (T1-T2-T3). Toothpastes were applied using a low speed rubber cup. Shade was measured using CIE L\*a\*b\* system. SRI was measured using reflectometer before bleaching (T0) and 7 days after T3 (T4). Ra, RMS and NH were evaluated using atomic force microscope at T4. Intergroup comparisons were performed by Kruskal-Wallis/Dunn-Bonferroni tests. Differences between SRI and shade (L\* and b\*) at T0 and T4 were analysed using Wilcoxon test. **Results:** For Ra, RMS, shade and SRI, significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups were found. For NH, no significant difference was found ( $p = 0.920$ ). After Dunn-Bonferroni adjustment, significant differences between G1 and G5 for Ra and SRI were found. Only G1 presented significant difference ( $p = 0.028$ ) between T0 and T4 for SRI. For L\* and b\*, all groups had a significant difference ( $p < 0.05$ ) between T0 and T4. **Conclusion:** G5 showed higher Ra and lower SRI than control group. For the other groups, the desensitizing toothpaste applied before or after DB did not interfere with enamel NH, roughness, shade or SRI.

**Clinical relevance:** The tested desensitizing toothpastes can be applied before or after dental bleaching, except for Colgate Sensitive Pro-Relief applied after dental bleaching, without interference in nanohardness, roughness, shade and final reflection of the tooth enamel.

**Keywords:** Pro-argin, Novamin, Toothpastes, Dentin desensitizing agents, Tooth Bleaching, Dental Enamel.

## Introduction

Dental bleaching is considered a simple and conservative treatment to change tooth shade and has been extensively investigated aiming to determine an appropriate protocol for obtaining satisfactory results without undesirable damage to the tooth's structure [1]. Dental bleaching is associated with some side effects, such as dentin hypersensitivity and changes in enamel morphology and composition as well as greater surface roughness, which can increase microorganism adhesion and tooth pigmentation [2-5]. Some studies have reported a reduction in nanohardness and an increase of enamel roughness after bleaching with peroxides [6-8], while other studies showed no changes in enamel microhardness and roughness [9-11]. Thus, to obtain a more lasting and effective bleaching effect and to preserve a healthy dental structure, it is essential that the damage to the enamel surface be recovered after treatment [11].

Dentin hypersensitivity associated with dental bleaching is a common complaint of patients that occurs mainly in the first 24 hours after treatment. It affects 10% to 100% of patients undergoing in-office or at-home bleaching, regardless of bleaching protocol [12-16]. Generally, it is associated with microscopic defects on enamel or dentin surface [17] and high concentration of peroxides [18,19]. The hypotheses presented for dentin hypersensitivity after dental bleaching consider that peroxide penetrates into the dental structure with diffusion of the bleaching agent into the pulp and activation of pain receptors; or that this diffusion causes a pulp inflammatory process, such as reversible pulpitis; or that oxygen bubbles from peroxides enter into the dentin tubules with activation of mechanoreceptors in the intratubular nerves (hydrodynamic theory) [12,18].

As bleaching can reduce the amount of calcium and phosphorus in the structure of the enamel and modify the morphology of most superficial crystals when compared to healthy enamel, an application of remineralizing agents before bleaching can reduce the diffusion of peroxide through the enamel and dentin and can minimize deleterious effects to teeth and hypersensitivity [8,20]. Some desensitizing toothpastes promote remineralization by forming calcium precipitates [21,22]. Pro-argin-based toothpastes act by mineralization, physical blockage and sealing of the openings of the dentin tubules [23]. With similar purpose, calcium-sodium phosphosilicate-based (NovaMin) toothpastes consist of an amorphous

inorganic compound classified as bioactive glass, which undergoes chemical reactions when in contact with aqueous solution and results in the formation of a mineralized layer on the surface of the tooth [24]. Although both Pro-argin and NovaMin toothpastes are effective for dentin hypersensitivity reduction, there is no significant difference between them and both can be prescribed to treat dentin hypersensitivity with equivalent effectiveness up to four weeks [25].

Although few studies discuss the effects of desensitizing agents on enamel surface before or after dental bleaching [26-29], no study has directly compared both these moments of desensitizing toothpaste application in the same report. Thus, this study aimed to investigate if the application of desensitizing toothpaste application, immediately before or after dental bleaching, affects enamel surface shade, reflection intensity, roughness and nanohardness. The null hypothesis tested was that different desensitizing toothpastes and the moment of application on the enamel surface do not affect its shade, reflection intensity, roughness or nanohardness.

## **Materials and methods**

### *Study design*

The factors evaluated in this *in vitro* study were the desensitizing toothpastes (Sensodyne Repair & Protect, GSK; Colgate Sensitive Pro-Relief, Colgate-Palmolive; and Elmex Sensitive, Colgate-Palmolive) and the moment of toothpaste application (before or after tooth bleaching). The response variables were enamel surface shade ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ), surface reflection intensity (SRI), roughness ( $R_a$ , RMS) and nanohardness. The experimental units were 42 bovine tooth specimens.

### *Sample, randomization and groups*

The specimens were randomly divided in seven groups ( $n = 6$ ), according to the desensitizing agents and the moment of toothpaste application, using =RANDOM() function from Excel software (Microsoft):

G1: Weekly bleached and stored in artificial saliva (control)

G2: Sensodyne Repair & Protect + dental bleaching session

G3: Dental bleaching session + Sensodyne Repair & Protect

G4: Colgate Sensitive Pro-Relief + dental bleaching session

G5: Dental bleaching session + Colgate Sensitive Pro-Relief

G6: Elmex Sensitive + dental bleaching session

G7: Dental bleaching session + Elmex Sensitive

#### *Preparation of specimens*

Bovine incisors crowns were stored in 0.1% thymol solution at 5°C for one week and maintained in distilled water until use. Experimental areas of enamel and dentin blocks of 36 mm<sup>2</sup> from the middle third of the buccal surface of crowns were obtained with a precision metallographic cutting machine with diamond saw (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Each dental block was centrally positioned into a PVC tube matrix, 1 cm in height and 2 cm in width, which was filled with a polyester resin (Cristal 5061, Casa da Resina e do Silicone, Belo Horizonte, MG, Brazil). Each specimen was flattened and polished with a water-cooled #600 and #1000 silicon carbide sandpaper (Norton Agua Advance, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, SP, Brazil) on a metallographic polishing machine (APL 4, Arotec, Cotia, SP, Brazil). The specimens were washed with distilled water for 5 seconds, polished with an aluminium oxide polishing paste (Dimond excel, FGM, Joinville, SC, Brazil) and felt disc for 30 seconds, and then placed in an ultrasonic bath for 10 minutes.

#### *Bleaching and desensitizing procedures*

The bleaching agent, desensitizing toothpastes and their modes of use are described in Table 1. For groups 2, 4 and 6, the desensitizing toothpaste was applied on the enamel surface with a rubber cup under low speed for 60 seconds, and immediately after, the bleaching session started. For groups 3, 5 and 7, the specimens were submitted to the bleaching session, and immediately after, the desensitizing toothpaste was applied on the enamel surface with a rubber cup under low speed for 60 seconds.

Each bleaching session consisted of three applications of hydrogen peroxide 35% (HP) for 15 minutes each. Three bleaching sessions were carried out in 7-day intervals (T1, T2 and T3). Between each bleaching session, the specimens were washed in distilled water for 10 seconds and air-dried for 10 seconds. After

application of the desensitizing agent, the specimens were washed in distilled water for 10 seconds and air-dried for 5 seconds.

After all day treatment, the specimens were stored in artificial saliva (0.96 g of KCl, 0.67 g of NaCl, 0.04 g of MgCl<sub>2</sub>, 0.27 g of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.12 g of CaCl<sub>2</sub>, 0.1 g of nipagin, 8 g of carboxymethylcellulose, 24 g of sorbitol and 1000 ml of bidistilled water) (Lenzafarm, Belo Horizonte, MG, Brazil) and kept in a biological stove at 37°C. After the three bleaching sessions (T1, T2 and T3), treatment was concluded. The specimens were stored in artificial saliva, kept in a biological stove at 37°C for one more week and then data were collected (T4).

### *Shade measurements*

Dental shade reading of each specimen was performed inside a standard box placed in the same position for all measurements in an ambient artificial light condition. The dental shade was measured using a VITA Easyshade Advance 4.0 spectrophotometer (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Baden-Württemberg, Germany) before any treatment (baseline, T0) and 7 days after T3 (T4). Before starting the measurement of each block of specimens, the spectrophotometer was calibrated according to the protocol established by the manufacturer.

Spectrum based on the CIE L\*a\*b\* system was adopted. L\* represents the luminosity (white-black), a\* represents the red-green and b\* represents the yellow-blue shade components. Differences between the T0 and T4 values of L\*, a\* and b\* were recorded. Dental shade differences ( $\Delta E$ ) were calculated using the equation:  $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ .

### *Enamel surface reflection intensity (SRI) measurements*

The enamel surface reflection intensity of each specimen was independently measured by two raters using a pen-size optical reflectometer (Optipen 2, prototype developed by the University of Bern). This instrument has a hand-held piece with a laser diode that directs a 635 nm laser beam to the dental surface. The tip of the reflectometer was placed directly onto the enamel surface of each specimen and inclined in various angles until the point of highest reflection intensity was registered in connected software developed for the reflectometer. Each rater searched for a point of stability of reflection value near the maximum value of reflection and this

value was recorded as the reflection value of the specimen by the corresponding software.

The SRI value is dimensionless. A greater SRI value is supposed to represent a greater reflection intensity of the enamel surface, which corresponds to a flatter enamel surface. As well as, a lower SRI value is supposed to correspond to a rougher enamel surface. An average of the two SRI values obtained by the two raters was calculated and considered as each specimen's SRI value.

#### *Surface roughness and nanohardness tests*

Enamel surface roughness and nanohardness were evaluated with an atomic force microscope and nanoindenter (MFP-3D-SA ASYLUM RESEARCH, Oxford Instruments, Abingdon, United Kingdom) at T4 for each specimen.

For roughness tests, the topography of specimens was analysed within three two-dimensional areas of  $20 \times 20 \mu\text{m}^2$  and an image resolution of 512 scan points  $\times$  256 scan lines pixels. Results for arithmetic average height parameter (Ra, nm) and root mean square parameter (RMS, nm) were taken. For nanoindentation tests, 16 points of indentation, within an area of  $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ , were measured with distance of  $10 \mu\text{m}$  between points. The average of these 16 nanoindentations, measured in GPa, was considered as the specimen's nanohardness.

#### *Statistical analysis*

Statistical analyses of data were performed using the statistical software SPSS Statistics (Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp). Statistical difference was set at  $p < 0.05$ . Data was explored for normality of dependent variables values using the Shapiro-Wilk test. Equality of variances was assessed by Levene's test.

Multiple comparisons of the values of  $\Delta E$ , SRI, Ra, RMS and nanohardness among the groups were analysed by the Kruskal-Wallis test and Dunn-Bonferroni post hoc test. To analyse if there was any difference between SRI values at T0 and T4 for each group, the Wilcoxon test was applied. Values of  $L^*$  and  $b^*$  of the CIE  $L^*a^*b^*$  system were considered for analysis if there was any difference between dental shade at T0 and T4 for each group, using the Wilcoxon test. Multiple comparisons of the median values of final  $L^*$  and final  $b^*$  among the groups were analysed by the Kruskal-Wallis test.

## Results

For  $\Delta E$  ( $p=0.016$ ), SRI ( $p=0.009$ ), Ra ( $p=0.007$ ) and RMS ( $p=0.018$ ), the Kruskal-Wallis test showed significant differences among groups. Representative images of surface roughness for each group are presented in Figure 1. For nanohardness ( $p=0.920$ ), no significant difference among the groups was found. After Dunn-Bonferroni adjustment, significant differences were found only between G1 and G5 for Ra ( $p=0.033$ ) and SRI ( $p=0.004$ ) (Table 2).

The Wilcoxon test showed a significant difference between SRI values at T0 and T4 for the control group ( $p=0.028$ ). For the other groups, no significant differences were found (Table 3).

For dental shade analysis at T0 and T4, the Wilcoxon test showed significant differences for all groups for both  $L^*$  and  $b^*$  values. No significant differences were found between  $L^*$  and  $b^*$  final values between groups ( $p>0.05$ ) (Table 4).

## Discussion

This *in vitro* study demonstrated the effect of 8% Pro-argin-based toothpaste, Colgate Sensitive Pro-Relief, applied after dental bleaching sessions on increasing the enamel surface roughness (Ra) and decreasing SRI. The other desensitizing agents (NovaMin-based toothpaste, Sensodyne Repair & Protect, and Pro-argin-based toothpaste, Elmex Sensitive) applied immediately before or after dental bleaching did not affect the enamel surface shade, reflection intensity, roughness or nanohardness. The null hypothesis tested was partially rejected.

Different methodologies (*in vitro*, *in situ*), bleaching protocols, dental substrate (human x bovine), micro- or nanohardness test, surface or subsurface roughness test, storage conditions, use of remineralizing agents, pH and concentration of bleaching agents impair the comparison of different studies [30,31].

Hardness can be measured by Knoop, Vickers or nanoindentation tests, immediately after bleaching or after a post-treatment period, as well as samples can be stored with or without remineralizing solutions. When the hardness measurement occurs after a post-treatment interval and when dental substrate samples are stored with artificial or human saliva, no difference between baseline and final hardness



values are usually found for the majority of studies [31]. Saliva plays an essential role in maintaining or creating an active environment that reduces demineralization and promotes remineralization of tooth surfaces exposed to dental bleaching. Even when artificial saliva is used to simulate the function of natural saliva, the harmful effects of bleaching were less evident [32,33]. Current literature shows that micro- and nanohardness reduction cannot be found after 7 days storage in artificial saliva for specimens bleached with 25–35% hydrogen peroxide [34-36]. Besides that, fluoride compounds applied during the bleaching steps can also significantly reduce the probability of hardness reduction [30,31]. Microhardness increased in the groups treated with desensitizing dentifrices (NovaMin > Pro-argin > others) [37] or decreased 1 day after bleaching and increased 14 days later with storage in artificial saliva [28].

These findings agree with our results, confirming saliva potential. In the present study, the specimens were stored in artificial saliva for 7 days after dental bleaching associated with desensitizing toothpastes and, only then, hardness tests were performed. In addition, the toothpastes used contain fluoride in their composition and have a remineralizing action. These facts may explain the absence of nanohardness differences between groups.

Usually, an increase of surface roughness occurs after dental bleaching when highly concentrated bleaching agents are applied [35,38]. On the other hand, when remineralizing solutions are associated with dental bleaching, surface roughness reduction may occur [39]. Bleaching gels with lower pH increase the risk of greater solubility of enamel calcium and phosphate [40]. High peroxide concentrations can promote, as adverse effects, a great loss of minerals, decreasing the hardness, increasing the roughness and changing the chemical composition of the enamel [34,41-44]. In this study, although a high concentration (35%) and low pH (pH = 4.88-5.57) peroxide had been used, the roughness was different only between 8% Pro-argin-based toothpaste (Colgate Sensitive Pro-Relief) and the control group. This result is in agreement with the analysis of a review which affirms that no significant changes in enamel surface morphology after bleaching can be detected, even when high concentrations of peroxide were applied [30]. However, in other studies, the use of desensitizing agents associated with dental bleaching did not affect enamel

roughness [27] or roughness increased in all bleached groups, except the NovaMin group [37].

The results also showed that the desensitizing agents applied both before or after dental bleaching did not alter the whitening result. There was an increase in luminosity ( $L^*$  parameter), a decrease in yellow ( $b^*$  parameter) and  $\Delta E$  values above 3.3, ensuring the safety of the use of desensitizing agents in patients with hypersensitivity regarding the tooth colour criterion. These data agree with similar data previously reported [28,29,37].

SRI was different between G1 and G5, as well as Ra. This data implies the need for further studies about the possible correlation between SRI and roughness, as previously suggested [45]. SRI was not different between the baseline and the final measurements for all groups that received desensitizing toothpastes and different from the control group, only bleached. These results permit the inference that desensitizing toothpastes can protect dental enamel from SRI modifications after dental bleaching.

Both Colgate Sensitive Pro-Relief and Elmex Sensitive are Pro-argin-based desensitizing toothpastes. Different results found for them can suggest that compounds that are present in one and absent in the other can have an active action on remineralization and help enamel preservation. Both toothpastes contain the same fluoride compound (sodium monofluorophosphate – 1450 ppm), but just Elmex Sensitive includes tetrasodium pyrophosphate and tricalcium phosphate, for example. Besides that, no information about the arginine concentration in Elmex Sensitive was found in the manufacturer's information.

The results of this study suggest that the use of the tested desensitizing toothpastes before or after dental bleaching is safe for dentition. However, *in vitro* studies artificially simulate oral conditions and clinical evaluations are necessary to confirm these results and the effects of the bleaching protocols associated with desensitizing toothpastes on the relief of dentin hypersensitivity.

## **Conclusion**

Enamel specimens treated with 8% arginine-based toothpaste (Colgate Sensitive Pro-Relief) after dental bleaching sessions showed higher surface

roughness and lower reflection as compared to the control group, which was bleached and stored in artificial saliva. The other desensitizing agents used and the moment of their application (immediately before or after dental bleaching) did not interfere with the shade, reflection, roughness and nanohardness of the enamel surface. Thus, except for Colgate Sensitive Pro-Relief applied after dental bleaching sessions, the treatment protocols in patients with dentin hypersensitivity can include application of these remineralizing toothpastes before or after dental bleaching using 35% HP.

### **Acknowledgments**

This study was financed in part by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES), Finance Code 001, and by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Project Number APQ-01837-16.

### **Declarations of Interest**

None.

### **References**

- [1] T.M. Auschill, E. Hellwig, S. Schmidale, A. Sculean, N.B. Arweiler, Efficacy, side-effects and patients acceptance of different bleaching techniques (OTC, in-office, at-home), *Oper Dent* 30 (2005) 156-163.
- [2] E. Klarić, M. Marcus, M. Ristić, I. Sever, K. Prskalo, Z. Tarle, Surface changes of enamel and dentin after two different bleaching procedures, *Acta Clin Croat* 52 (2013) 419-428.
- [3] L. Mei, H.J. Busscher, H.C. van der Mei, Y. Ren, Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to composite resins, *Dent Mater* 27 (2011) 770-778.
- [4] Y. S. Kim, H. K. Kwon, B. I. Kim, Effect of nano-carbonate apatite to prevent re-stain after dental bleaching in vitro, *J Dent* 39 (2011) 636-642.

- [5] J.E.C. Pinheiro, R.A. Fidel, A.M. Cruz Filho, R.G. Silva, J.D. Pécora, In vitro action of various carbamide peroxide gel bleaching agents on the microhardness of human enamel, *Braz Dent J* 7 (1996) 75-79.
- [6] W. Buchalla, T. Attin, External bleaching therapy with activation by heat, light or laser: a systematic review, *Dent Mater* 23 (2007) 586-596.
- [7] C.F. Pinto, R. Oliveira, V. Cavalli, M. Giannini, Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology, *Braz Oral Res* 18 (2004) 306-311.
- [8] F.B. Cunha, E. Rodrigues, B.H. Silva, B.L.F. Paula, C. M. Alencar, F.F.A. Jassé, C.M. Silva, Effect of high concentrated fluoride-based dentifrice on the hardness, roughness, and color of the bleached enamel, *J Conserv Dent* 21 (2018) 433-437.
- [9] C. Zantner, N. Beheim-Schwarzbach, K. Neumann, A.M. Kielbassa, Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures, *Dent Mater* 23 (2007) 243-250.
- [10] A. Joiner, G. Thakker, Y. Cooper, Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro, *J Dent* 32 (2004) 27-34.
- [11] A.L.P. China, N.M. Souza, Y.S.B.L Gomes, L.D. Alexandrino, C.M. Silva, Effect of Fluoride Gels on Microhardness and Surface Roughness of Bleached Enamel, *Open Dent J* 8 (2014) 188-193.
- [12] A. M. Kielbassa, M. Maier, A. K. Gieren, E. Eliav, Tooth sensitivity during and after vital tooth bleaching: a systematic review on an unsolved problem, *Quintessence Int* 46 (2015) 881-897.
- [13] I. Luque-Martinez, A. Reis, M. Schroeder, M. A. Muñoz, A. D. Loguercio, D. Masterson, L. C. Maia, Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis, *Clin Oral Invest* 20 (2016) 1419-1433.
- [14] J. R. Souto-Maior, S. L. D. Moraes, C. A. A Lemos, B. C. E. Vasconcelos, M. A. J. R. Montes, E. P. Pellizzer, Effectiveness of light sources on in-office dental bleaching: A systematic review and meta-analyses, *Oper Dent* 44 (2019) E105-E117.

- [15] B. M. Maran, A. Burey, T. P. Matos, A. D. Loguercio, A. Reis, In-office dental bleaching with light vs. without light: A systematic review and meta-analysis, *J Dent* 70 (2018) 1-13.
- [16] C. R. Serraglio, L. Zanella, K. B. Dalla-Vecchia, S. A. Rodrigues-Junior, Efficacy and safety of over-the-counter whitening strips as compared to home-whitening with 10 % carbamide peroxide gel—systematic review of RCTs and metanalysis, *Clin Oral Invest* 20 (2016) 1-14.
- [17] T. Attin, A.M. Kielbassa, M. Schwanenberg, E. Hellwig, Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel, *J Oral Rehabil* 24 (1997) 282-286.
- [18] K. Markowitz, Pretty painful: why does tooth bleaching hurt? *Med Hypotheses* 74 (2010) 835-840.
- [19] C.M. Carey, Tooth whitening: what we now know, *J Evid Based Dent Pract* 14 (2014) 70-76.
- [20] A.D. Loguercio, L.Y. Tay, D.R. Herrera, J. Bauer, A. Reis, Effectiveness of nano-calcium phosphate paste on sensitivity during and after bleaching: a randomized clinical trial, *Braz Oral Res* 29 (2015) 1-7.
- [21] C.A. Arrais, C.D. Micheloni, M. Giannini, D.C. Chan, Occluding effect of dentifrices on dentinal tubules, *J Dent* 31 (2003) 577-584.
- [22] L. Medvecky, R. Stulajterova, M. Giretova, J. Mincik, M. Vojtko, J. Balko, J. Briancin, Effect of tetracalcium phosphate/monetite toothpaste on dentin remineralization and tubule occlusion in vitro, *Dent Mater* 34 (2018) 442-451.
- [23] M.O. Sharif, S. Iram, P.A. Brunton, Effectiveness of arginine-containing toothpastes in treating dentine hypersensitivity: A systematic review, *J Dent* 41 (2013) 483-492.
- [24] Z. Wang *et al*, The dentine remineralization activity of a desensitizing bioactive glass-containing toothpaste: an *in vitro* study, *Aust Dent J* 56 (2011) 372-381.
- [25] D.C. Arantes, F.I.R. Limeira, M. Yamauti, A.N. Moreira, L.G. Abreu, C.S. Magalhães, Comparison of clinical efficacy of Pro-argin and NovaMin toothpastes in relieving dentin hypersensitivity: a systematic review and meta-analysis, *Oral Health Prev Dent* 17 (2019) 403-412.

- [26] W.F. Vieira-Junior, L.N. Ferraz, N.I.P. Pini, G.M.B. Ambrosano, F.H.B. Aguiar, C.P.M. Tabchoury, D.A.N.L. Lima, Effect of toothpaste use against mineral loss promoted by dental bleaching, *Oper Dent* 43 (2018) 190-200.
- [27] K. Pintado-Palomino, C. Tirapelli, The effect of home-use and in-office bleaching treatments combined with experimental desensitizing agents on enamel and dentin, *Eur J Dent* 9 (2015) 66-73.
- [28] Z.B. Kutuk, E. Ergin, F.Y. Cakir, S. Gurgan, Effects of in-office bleaching agent combined with different desensitizing agents on enamel, *J Appl Oral Sci* 27 (2019) e20180233.
- [29] C.M. Alencar, V.F. Pedrinha, J.L.N. Araújo, R.A. Esteves, A.D.S. Silveira, C.M. Silva, Effect of strontium chloride and 5% potassium nitrate with fluoride on bleached bovine enamel, *Open Dent J* 11 (2017) 476-484.
- [30] A. Joiner, Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties, *J Dent* 35 (2007) 889-896.
- [31] T. Attin, P.R. Schmidlin, F. Wegehaupt, A. Wiegand, Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review, *Dent Mater* 25 (2009)143-157.
- [32] J.A. Rodrigues, R.T. Basting, M.C. Serra, A.L. Rodrigues Junior, Effects of 10% carbamide peroxide bleaching on enamel microhardness, *Am J Dent* 14 (2001) 67-71.
- [33] P.M. Freitas, R.T. Basting, J.A. Rodrigues, M.C. Serra, Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different time intervals, *Quintessence Int* 33 (2002) 370-375.
- [34] R.F.L. Mondelli, T.R.C.G. Gabriel, F.A.P. Rizzante, A.C. Magalhães, J.F.S. Bombonatti, S.K. Ishikiriama, Do different bleaching protocols affect the enamel microhardness?, *Eur J Dent* 9 (2015) 25-30.
- [35] R.P. Oliveira, J.C.P. Baia, M.E.S. Ribeiro, M.H.S. Souza Junior, S.C. Loretto, Influence of time intervals between bleaching procedures on enamel microhardness and surface roughness, *Open Dent J* 12 (2018) 555-559.

- [36] A.T. Abe, M.N. Youssef, M.L. Turbino, Effect of bleaching agents on the nanohardness of tooth enamel, composite resin, and the tooth-restoration interface, *Oper Dent* 41 (2016) 44-52.
- [37] W.F. Vieira-Junior, D.A.N.L. Lima, C.P.M. Tabchoury, G.M.B. Ambrosano, F.H.B. Aguiar, J.R. Lovadino, Effect of toothpaste application prior to dental bleaching on Whiteness effectiveness and enamel properties, *Oper Dent* 41 (2016) E29-38.
- [38] O. Polydorou, S. Scheitza, M. Spraul, K. Vach, E. Hellwig, The effect of long-term use of tooth bleaching products on the human enamel surface, *Odontology* 106 (2018) 64-72.
- [39] M. Khoroushi, F. Shirban, S. Doustfateme, S. Kaveh, Effect of three nanobiomaterials on the surface roughness of bleached enamel, *Contemp Clin Dent* 6 (2015) 466-470.
- [40] J. Zanolla, A. Marques, D.C. Costa, A.S. Souza, M. Coutinho, Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis, *Aust Dent J* 62 (2017) 276-282.
- [41] H. Tezel, O.S. Ertas, F. Ozata, H. Dalgar, Z.O. Korkut, Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface, *Quintessence Int* 38 (2007) 339-47.
- [42] R.F. Mondelli, J.F. Azevedo, P.A. Francisoni, S.K. Ishikiriyama, J. Mondelli, Wear and surface roughness of bovine enamel submitted to bleaching, *Eur J Esthet Dent* 4 (2009) 396-403.
- [43] F.O Araujo, L.N. Baratieri, E. Araújo, In situ study of in-office bleaching procedures using light sources on human enamel microhardness, *Oper Dent* 35 (2010) 139-46.
- [44] M. Sulieman, M. Addy, E. Macdonald, J.S. Rees, A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine, *J Dent* 32 (2004) 581-590.
- [45] T. S. Carvalho, C.M. Assunção, F. Jost, W.B. Bürgin, J.A. Rodrigues, A. Lussi, In vitro validation of a hand-held optical reflectometer to measure clinically observed erosive tooth wear, *Lasers Med Sci* 31 (2016) 1105-1112.

Figure

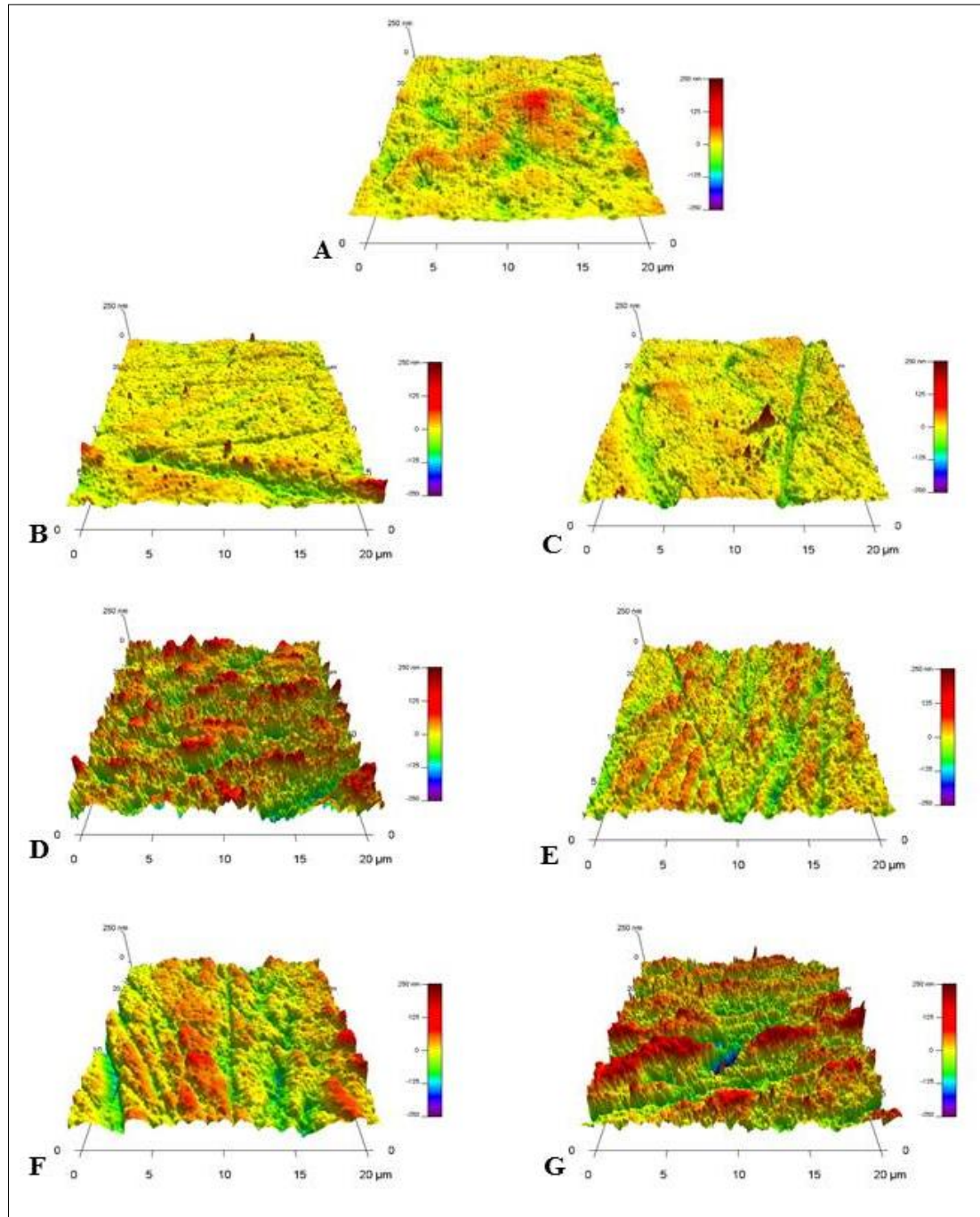


Figure 1. Representative three-dimensional images of surface roughness at T4 for each group: A) G1; B) G2; C) G3; D) G4; E) G5; F) G6; G) G7.



## Tables

**Table 1.** Description of bleaching agent, desensitizing toothpastes and their modes of use.

Product	Commercial name (Manufacturer)	Composition	Mode of use
Bleaching agent	Whiteness HP (FGM, Joinville, SC, Brazil)	Hydrogen peroxide 35%	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Mix the peroxide phase with the thickening phase in the ratio of 3 drops of peroxide to 1 drop of thickener</li> <li>2. With a spatula, completely cover the buccal surface of the tooth with a layer of gel</li> <li>3. Make 3 applications of 15 minutes each, per session</li> <li>4. Move the gel on the tooth 3 to 4 times to release any generated oxygen bubbles and renew the best possible contact of the gel with the tooth</li> </ol>
Toothpaste	Sensodyne Repair & Protect (GSK, São Paulo, SP Brazil)	Sodium Fluoride (1426ppm), <b>Calcium Sodium Phosphosilicate 5% (NovaMin)</b> , Glycerin, PEG-8, Hydrated Silica, Aroma, Titanium Dioxide, Carbomer, Cocamidopropyl Betaine, Sodium Methyl Cocoyl Taurate, Sodium Saccharin	In low speed, apply the toothpaste on the surface and brush the tooth for 60 seconds
Toothpaste	Colgate Sensitive Pro-relief (Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brazil)	Calcium Carbonate, Aqua, Sorbitol, <b>Arginine Bicarbonate (8%)</b> , Sodium Lauryl Sulfate, Sodium Monofluorophosphate (1450 ppm), Aroma, Cellulose Gum, Sodium Bicarbonate, Potassium Acesulfame, Sodium Silicate, Xanthan Gum, Sucralose, Titanium Dioxide	In low speed, apply the toothpaste on the surface and brush the tooth for 60 seconds
Toothpaste	Elmex Sensitive (Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brazil)	Aqua, Calcium Carbonate, Sorbitol, <b>Arginine Bicarbonate</b> , Hydrated Silica, Sodium Lauryl Sulfate, Aroma, Sodium Monofluorophosphate (1450 ppm), Cellulose Gum, Sodium Bicarbonate, Tetrasodium Pyrophosphate, Tricalcium Phosphate, Sodium Saccharin, Benzyl Alcohol, Xanthan Gum, Limonene	In low speed, apply the toothpaste on the surface and brush the tooth for 60 seconds

**Table 2.** Median and interquartile range of enamel surface shade ( $\Delta E$ ), surface reflection intensity (SRI), surface roughness (Ra and RMS) and nanohardness according to experimental groups.

Groups	Ra (nm)	RMS (nm)	Nanohardness (GPa)	Shade ( $\Delta E$ )	SRI at T4
G1	12.33±10.68 <sup>a</sup>	16.34±18.70 <sup>a</sup>	4.39±0.72 <sup>a</sup>	9.35±4.69 <sup>a</sup>	24.63±2.15 <sup>a</sup>
G2	12.11±1.91 <sup>ab</sup>	16.00±2.64 <sup>a</sup>	4.95±1.67 <sup>a</sup>	10.91±3.60 <sup>a</sup>	22.87±4.42 <sup>ab</sup>
G3	19.72±9.66 <sup>ab</sup>	29.74±18.47 <sup>a</sup>	5.41±1.55 <sup>a</sup>	13.05±9.44 <sup>a</sup>	22.03±7.28 <sup>ba</sup>
G4	38.11±7.75 <sup>ab</sup>	48.15±11.06 <sup>a</sup>	5.53±1.42 <sup>a</sup>	20.16±10.42 <sup>a</sup>	17.72±7.44 <sup>ab</sup>
G5	36.54±16.81 <sup>b</sup>	51.54±37.45 <sup>a</sup>	5.10±1.24 <sup>a</sup>	14.08±13.63 <sup>a</sup>	16.87±5.38 <sup>b</sup>
G6	29.30±11.71 <sup>ab</sup>	37.18±15.25 <sup>a</sup>	5.35±2.25 <sup>a</sup>	13.48±3.64 <sup>a</sup>	19.87±1.32 <sup>ab</sup>
G7	24.60±12.64 <sup>ab</sup>	34.56±16.45 <sup>a</sup>	5.47±0.76 <sup>a</sup>	13.86±12.70 <sup>a</sup>	20.36±3.34 <sup>ab</sup>

Different superscript letters indicate significant differences in the comparison between rows/groups (after Dunn-Bonferroni correction)

**Table 3.** Median and interquartile range for surface reflection intensity (SRI) at T0 and T4.

Groups	T0 SRI	T4 SRI	p value <sup>#</sup>
G1	22.84±5.11	24.63±2.16	0.028
G2	22.43±4.83	22.87±4.43	0.715
G3	22.75±2.53	22.03±7.28	0.715
G4	21.79±3.00	20.42±7.44	0.465
G5	23.03±3.64	16.87±5.39	0.068
G6	22.07±6.91	19.87±1.33	0.465
G7	22.58±6.02	20.36±3.34	0.273

<sup>#</sup> Wilcoxon test

**Table 4.** Median and interquartile range for L\* and b\* parameters at T0 and T4.

Groups	L* T0	L* T4	p value <sup>#</sup>	b* T0	b* T4	p value <sup>#</sup>
G1	84.65±2.10 <sup>Aa</sup>	90.20±5.00 <sup>Ab</sup>	0.028	23.90±2.40 <sup>Aa</sup>	18.00±3.30 <sup>Ab</sup>	0.027
G2	87.70±7.10 <sup>Aa</sup>	93.40±9.30 <sup>Ab</sup>	0.046	27.65±5.50 <sup>Aa</sup>	19.45±3.80 <sup>Ab</sup>	0.027
G3	82.95±4.70 <sup>Aa</sup>	89.80±1.70 <sup>Ab</sup>	0.028	29.95±10.10 <sup>Aa</sup>	15.40±0.90 <sup>Ab</sup>	0.027
G4	84.70±7.70 <sup>Aa</sup>	92.95±2.80 <sup>Ab</sup>	0.028	28.70±5.40 <sup>Aa</sup>	17.70±4.90 <sup>Ab</sup>	0.028
G5	82.05±7.80 <sup>Aa</sup>	92.80±5.70 <sup>Ab</sup>	0.028	29.30±8.30 <sup>Aa</sup>	16.00±5.80 <sup>Ab</sup>	0.028
G6	83.80±7.20 <sup>Aa</sup>	90.50±5.40 <sup>Ab</sup>	0.028	28.60±6.10 <sup>Aa</sup>	16.35±5.40 <sup>Ab</sup>	0.028
G7	86.50±4.70 <sup>Aa</sup>	91.55±3.90 <sup>Ab</sup>	0.046	25.65±7.60 <sup>Aa</sup>	15.70±4.20 <sup>Ab</sup>	0.028

Equal capital letters indicate no significant differences in the comparison among rows/groups (Kruskal-Wallis test). Different lowercase letters indicate significant difference between columns (<sup>#</sup>Wilcoxon test for T0 x T4).

## 4.2 Artigo 2

**An optical reflectometer to measure surface reflection intensity of enamel  
submitted to dental bleaching and desensitizing toothpastes**

Diandra Costa Arantes<sup>1</sup>, Fernanda Novais Arantes<sup>2</sup>, Cristiane Meira Assunção<sup>3</sup>,  
Thiago Saads Carvalho<sup>4</sup>, Monica Yamauti<sup>5</sup>, Allyson Nogueira Moreira<sup>6</sup>, Cláudia  
Silami de Magalhães<sup>6</sup>

<sup>1</sup> PhD student. Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>2</sup> Undergraduate student. Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>3</sup> Adjunct professor, Department of Child and Adolescent Oral Health, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>4</sup> Senior research associate and senior lecturer, Department of Restorative, Preventive and Pediatric Dentistry, Dental Research Center, University of Bern, Bern, Switzerland.

<sup>5</sup> Adjunct professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

<sup>6</sup> Full professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

**Author for correspondence**

Dr. Cláudia Silami de Magalhães

E-mail: silamics@yahoo.com

Telephone: 55 31 34092456

Av. Antônio Carlos, 6627. Campus Pampulha, CEP 31270-091, Belo Horizonte, MG, Brazil.

## **An optical reflectometer to measure surface reflection intensity of enamel submitted to dental bleaching and desensitizing toothpastes**

### **Abstract**

**Purpose:** to analyse the effect of dental bleaching (DB) and desensitizing toothpastes on surface reflection intensity (SRI) and SRI correlation with enamel shade and roughness. **Methods:** 42 bovine incisors were divided into 7 groups, n=6 (G1: control; G2: Toothpaste 1+DB; G3: DB+Toothpaste 1; G4: Toothpaste 2+DB; G5: DB+Toothpaste 2; G6: Toothpaste 3+DB; G7: DB+Toothpaste 3). Three bleaching sessions were realized at 7-day intervals (T1, T2 and T3). SRI was measured using optical reflectometer at T0 (baseline), T1, T2, T3 and 7 days after finishing treatments (T4) by two raters (R1, R2). Shade was measured using CIE L\*a\*b\* system at T0 and T4. Roughness (Ra, RMS) was evaluated with atomic force microscope at T4. Intraclass Correlation Coefficient (ICC) assessed inter-rater agreement on SRI measurements. Bland-Altman graph was plotted. For evaluation times, intragroup comparisons were made by Friedman/Dunn-Bonferroni tests. Pearson correlation test evaluated SRI association with shade, Ra, and RMS. **Results:** inter-rater agreement for SRI measurements was excellent (ICC=0.873). Bland-Altman plot showed SRI difference between R2 and R1 equal to 0.68. Significant differences were found between T1xT4 and T2xT4 for G1; T0xT3 after desensitizing application for G3; T0xT2 and T0xT3 both after desensitizing application for G4 and G6; T0xT2 after desensitizing application for G7. For all groups, no significant difference between T0xT4 was found. Moderate inverse correlation was found for SRI and Ra ( $r=-0.602$ ) and RMS ( $r=-0.501$ ). **Conclusion:** dental bleaching associated with desensitizing toothpastes application and storage in artificial saliva did not affect initial SRI. SRI was inversely correlated with enamel roughness.

**Keywords:** Dental Enamel, Diagnosis, Diagnostic equipment, Dentin desensitizing agents, Tooth Bleaching.

## Introduction

The main methods used to evaluate loss of dental structure, as enamel mineral loss, can be only applied on *in vitro* or *in situ* models. Experimental protocols usually require sample preparation to obtain flat and polished surfaces followed by microscope evaluations that cause damage on dental tissues.

A new optical device named reflectometer was developed to measure enamel tooth wear related to biocorrosion [1]. Reflectometer's basic principle is to measure tooth surface reflection intensity (SRI) quantifying the proportion of light from an incident laser beam reflected back from the enamel surface [1]. This instrument has a hand-held piece corresponding to a pen-size shape with fiber-optic design tool, small enough (head of 15 to 17 mm) to be used in the oral cavity [1]. It is composed by two multimode fibers and optical lens which focus light onto enamel surface allowing 23-deg angles of incidence and reflection [1]. The hand-piece emits a laser diode that directs a 635 nm laser beam to the dental surface. A photodiode (FDS 100, Thorlabs, Dachau, Germany) captures and measures the reflected light [1]. Fiber optic cables connected to the hand-piece and to a notebook through an USB port transmit the signal to a software created to record of sample name and SRI mensuration values [1]. Because of its features, reflectometer can be applied to enamel surfaces, producing a noninvasive and nondestructive, rapid and quantitative evaluation of dental tissues SRI.

Acid conditions induce mineral dissolution, demineralization and enamel loss, which cause a rougher and softer surface [2]. Reflection intensity can be affected by surface roughness. Theoretically, a flatter enamel surface generates greater SRI values while a rougher enamel surface produces lower SRI values [2]. A correlation has been already found between reflection intensity and surface roughness due to dental biocorrosion [2,3].

Dental bleaching is a very common esthetic treatment to change tooth shade, and can be associated with unwanted side effects, including alterations in enamel surface and dentin hypersensitivity [4-6]. Roughness increasing after dental bleaching has been reported, especially when lower pH and high concentration peroxides are applied [7-10]. Desensitizing toothpastes contain fluoride in their composition and have remineralizing action, assisting to recover surface damage, besides the potential to dentin hypersensitivity relief [11-15].

Visual inspection does not permit detection of early enamel surface changes due to biocorrosion process. The use of a clinically applicable tool to monitoring tooth structure changes is important to prevent excessive tooth wear. Thus, this study aimed to analyse the effect of dental bleaching and desensitizing toothpastes on SRI and the SRI association with enamel shade and roughness. The inter-rater agreement for SRI measures taken with a clinical optical reflectometer was also evaluated.

## **Materials and methods**

### *Study design and preparation of specimens*

This *in vitro* study was run with bovine incisors crowns stored in 0.1% thymol solution at 5°C for one week and maintained in distilled water until use. Forty-two specimens with a 36 mm<sup>2</sup> experimental area of enamel and dentin were obtained from the middle third of buccal surface using metallographic cutting machine with diamond saw (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Each dental block was embedded with polyester resin (Cristal 5061, Casa da Resina e do Silicone, Belo Horizonte, MG, Brazil), flatted and polished with water-cooled #600 and #1000 silicon carbide sandpaper (Norton Agua Advance, Norton Saint-Gobain, Guarulhos, SP, Brazil) on a metallographic polishing machine (APL 4, Arotec, Cotia, SP, Brazil). The specimens were then washed with distilled water, polished with aluminum oxide polishing paste (Diamond excel, FGM, Joinville, SC, Brazil) on felt disc, and placed in ultrasonic bath.

### *Sample, randomization and groups*

The specimens were randomly divided in seven groups (n = 6), according to the desensitizing toothpaste and the moment of its application:

- G1: Dental bleaching (control)
- G2: Toothpaste 1+ dental bleaching
- G3: Dental bleaching + toothpaste 1
- G4: Toothpaste 2+ dental bleaching
- G5: Dental bleaching + toothpaste 2

G6: Toothpaste 3+ dental bleaching

G7: Dental bleaching + toothpaste 3

#### *Bleaching and desensitizing procedures*

The bleaching agent, the desensitizing toothpastes and their modes of use are described on Table 1. For groups 2, 4 and 6, the desensitizing toothpaste was applied on the enamel surface and, immediately after, the bleaching session started on. For groups 3, 5 and 7, the specimens were submitted to the bleaching session and, immediately after, the desensitizing toothpaste was applied. Three bleaching sessions were carried out in seven-day intervals (T1, T2 and T3). After each bleaching session, the specimens were washed in distilled water (10 seconds) and air-dried (10 seconds). After the desensitizing toothpaste application, the specimens were washed in distilled water (10 seconds) and air-dried (5 seconds).

The specimens were stored in artificial saliva (0.96 g of KCl, 0.67 g of NaCl, 0.04 g of MgCl<sub>2</sub>, 0.27 g of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.12 g of CaCl<sub>2</sub>, 0.1 g of nipagin, 8 g of carboxymethylcellulose, 24 g of sorbitol, 1000 ml of bidistilled water) (Lenzafarm, Belo Horizonte, MG, Brazil) at 37°C after each bleaching time (T1, T2 and T3) and for one week after finishing treatment (T4).

#### *Enamel surface reflection intensity (SRI) measurements*

The enamel SRI of each specimen was independently measured by two raters (R1 and R2) using a pen-size optical reflectometer (Optipen 2, prototype developed by the University of Bern, Bern, Switzerland) at T0, T1, T2, T3 and T4. The tip of reflectometer was placed directly onto enamel surface and inclined in various angles until the point of highest reflection intensity was register in connected software. Each rater searched for a point of stability of reflection value near to the maximum value of reflection found and this value was recorded as the reflection value of the specimen by the corresponding software.

#### *Shade measurements*

Dental shade reading of each specimen was performed in ambient with artificial light using VITA Easyshade Advance 4.0 spectrophotometer (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Baden-Württemberg, Germany) at T4. Spectrum based on the CIE L\*a\*b\* system was adopted, where L\* represents the luminosity (white-

black axis), a\* represents the red-green axis and b\* represents the yellow-blue shade axis.

### *Surface roughness test*

For each specimen, enamel surface roughness was evaluated with atomic force microscope (MFP-3D-SA ASYLUM RESEARCH, Oxford Instruments, Abingdon, United Kingdom) at T4. Specimen's topography was analysed within three two-dimensional areas of 20 x 20  $\mu\text{m}^2$  and an image resolution of 512 scan points x 256 scan lines pixels. Results for arithmetic average height parameter (Ra) and root mean square parameter (RMS) were taken in a nanometric scale (nm).

### *Statistical analysis*

For statistical data analyses the software SPSS Statistics (Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp) was used. Intraclass Correlation Coefficient (ICC) assessed inter-rater agreement on SRI measurement, considering agreement as: poor (ICC < 0.4), satisfactory ( $0.4 \leq \text{ICC} < 0.75$ ) or excellent (ICC  $\geq 0.75$ ), according to Fleiss [16]. The magnitude of agreement/disagreement between raters was analysed by Bland-Altman plot. Intragroup comparisons of SRI values among the evaluation moments (T0, T1, T2, T3 and T4) were performed by Friedman and Dunn-Bonferroni post hoc tests. Intergroup comparisons of SRI values in each evaluation moment were performed by Kruskal-Wallis and Dunn-Bonferroni post hoc tests. Pearson correlation test evaluated the correlation between SRI and shade parameters L\* and b\*, Ra and RMS at T4.

## **Results**

SRI measures presented excellent inter-rater agreement (ICC = 0.873, Confidence Interval 95% = 0.828/0.905). The average of SRI values differences for R1 and R2 was 0.68 units (Figure 1). This means that, on average, R2 measured 0.68 units more than R1. Agreement limits indicated the range in which 95% of the differences are contained (from -6.02 to 7.38 units). The measurement error was 2.41 and the error range was 4.72. This means that the average of all possible measures of SRI measurement ranges from 4.72 above and 4.72 below the true measurement. For example, for a specimen with an SRI value of 20, the average of possible SRI measurements should be in the range of 15.28 to 24.72.



Median values and intragroup differences of SRI among moments of evaluation, including moments after bleaching and after desensitizing application, are reported in Table 2. The behavior of SRI mean values in each moment of evaluation, according to groups, is illustrated in the Figure 2. Table 2 presents also intergroup comparisons of SRI values in each evaluation moment. A moderate inverse correlation was found for SRI and Ra ( $r = -0.602$ ,  $p = 0.001$ ) and RMS ( $r = -0.501$ ,  $p = 0.006$ ) (Table 3).

## Discussion

This study showed SRI association with roughness of bleached enamel. When roughness increases SRI tends to decrease. This find is in accordance with literature, as previously reported for monitoring deep enamel biocorrosion compared to polished enamel [1]. After biocorrosion, more flat surfaces produced higher SRI values, while surfaces with more corrosion produced lower SRI values [2]. The present study confirmed this theory and contributed to instrument validation, since SRI was inversely associated with the roughness, the reference standard, of enamel bleached and treated with desensitizing toothpastes. On the other hand, tooth shade was not associated with SRI, which means that darker or whiter teeth can be able to reflect light in the same intensity.

Although reflectometer produces a quantitative value for SRI, the management of this tool could have a subjectivity component, as the search for a correct position of reflectometer's tip and the ability for found the higher value of SRI for each specimen depends on the rater. The excellent inter-agreement for two raters found in this study reinforces the equipment reproducibility. However, despite a low (near to zero units) average difference between raters, SRI measurements presented in Bland-Altman plot, a wide error range indicated substantial variance between raters. This may be related to rater's experience in SRI measurements, since R2 was the most experient and considered the reference in this study.

SRI values exhibited some differences according to stages of treatment, including bleaching and desensitizing toothpastes application, with a pattern of increased SRI after bleaching and reduced SRI after desensitizing toothpaste application. This goes against what was expected according to the theory that

bleaching increases enamel roughness. However, in control group, only bleached, SRI value slight decreased immediately after the first bleaching session. This value only increased from T2, which may indicate an effect of saliva on the surface. The reduced SRI after desensitizing toothpaste may have happened because of an opacifying effect due to deposition of mineral content on enamel surface. Pro-argin system (arginine) results in mineralization by the formation of a calcium rich layer which binds to the dental and calcium sodium phosphosilicate (NovaMin) produces calcium and phosphate supply to form hydroxycarbonate apatite, which is chemically and structurally equivalent to biological apatite [17]. In addition, the presence of water on the specimen's surface may have been an influencing factor in SRI measurements, because prior to SRI evaluations the specimens were dried with air syringe for a short time, without dehydration or desiccation. Refractive index of water (1.33) is close to the refractive index of hydroxyapatite (1.62) [18]. When the surface is completely dry, water from the intercrystalline spaces is removed and replaced with air, which has a different refractive index (1.00) than hydroxyapatite and distinct optical properties [18]. This makes enamel porosity more obvious and small surface differences can be more easily detected [18].

Despite these facts, no significant differences were found between the original and the final SRI values for any group. This might have occurred because of saliva protective effects. A salivary pellicle formed on enamel surface reduces effects of acid attacks and inhibits demineralization process by neutralization and buffering of acids [19].

Other new technologies employing light effect on dental surface for diagnostic tools have been already developed to identify and quantify demineralization, tooth decay and white spot lesions [20]. KavoDIAGNOdent™, for example, detects fluorescence emitted by cariogenic bacteria metabolites when applying 655-nm red light [20]. The depth of caries lesions are suggested by quantification of fluorescence intensity [20]. The reflectometer action mechanism, however, differs from this method as its fundamental is to quantify the proportion of light reflected back from the enamel surface.

Performing roughness evaluations simultaneously with all times of SRI measurement was not practicable because of the inherent complexity of atomic force microscopy analysis. It was a limitation of the study as these data could establish

association between roughness and SRI according to moments of treatment and indicate the immediate effect of bleaching and desensitizing toothpastes application on enamel roughness. However, the results suggest that the use of Optipen 2 can be a promising tool for SRI quantification, mainly in future clinical application. In situ or clinical studies using teeth indicated to extraction are necessary to confirm these results.

## **Conclusion**

Optipen 2 reflectometer provided excellent inter-rater agreement for SRI measurements. The final enamel SRI did not change after bleaching associated to desensitizing toothpastes application and storage in artificial saliva, in comparison to baseline values, although smallest SRI can be noticeable immediately after desensitizing toothpastes application. SRI was inversely associated with enamel surface roughness.

## **Acknowledgments**

This study was financed in part by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES), Finance Code 001, and by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Project Number APQ-01837-16.

## **Conflict of Interest**

The authors have no conflicts of interest.

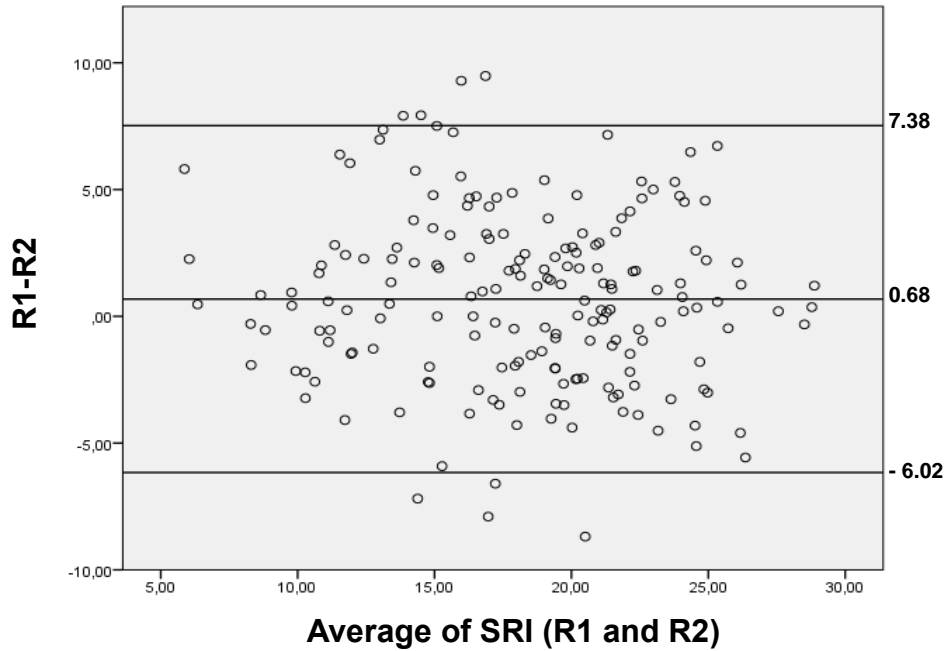
## **References**

1. Rakhmatullina E, Bossen A, Bachofner KK, Meier C, Lussi A (2013) Optical pen-size reflectometer for monitoring of early dental erosion in native and polished enamels. *J Biomed Opt* 18: 117009.

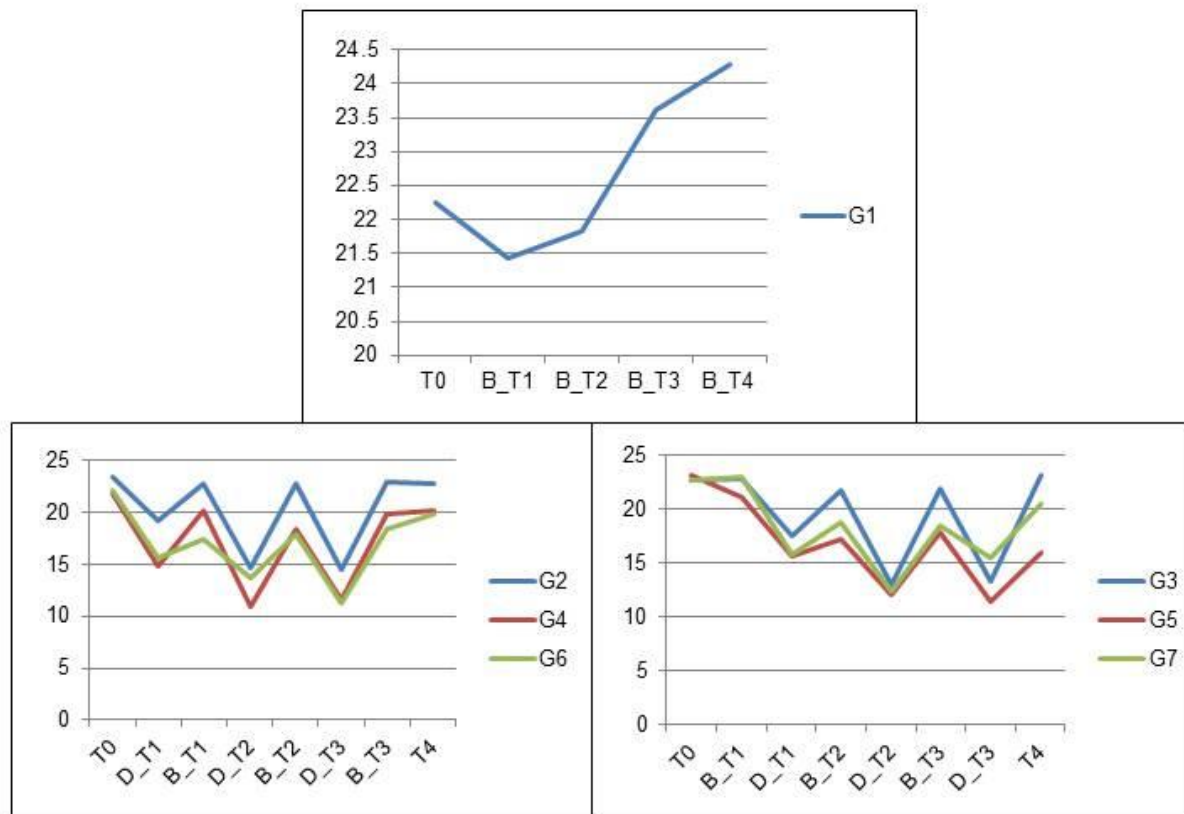
2. Carvalho, TS, Assunção CM, Jost F, Bürgin WB, Rodrigues JA, Lussi A (2016) In vitro validation of a hand-held optical reflectometer to measure clinically observed erosive tooth wear. *Lasers Med Sci* 31:1105-1112
3. Rakhmatullina E, Bossen A, Höschele C, Wang X, Beyeler B, Meier C, Lussi A (2011) Application of the specular and diffuse reflection analysis for in vitro diagnosis of dental erosion: correlation with enamel softening, roughness and calcium release. *J Biomed Opt* 16:107002.
4. Kielbassa AM, Maier M, Gieren AK, Eliav E (2015) Tooth sensitivity during and after vital tooth bleaching: a systematic review on an unsolved problem. *Quintessence Int* 46:881-897.
5. Luque-Martinez I, Reis A, Schroeder M, Muñoz MA, Loguercio AD, Masterson D, Maia LC (2016) Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Invest* 20:1419-1433.
6. Souto-Maior JR, Moraes SLD, Lemos CAA, Vasconcelos BCE, Montes MAJR, Pellizer EP (2019) Effectiveness of light sources on in-office dental bleaching: A systematic review and meta-analyses. *Oper Dent* 44:E105-E117.
7. Polydorou O, Scheitza S, Spraul M, Vach K, Hellwig E (2018) The effect of long-term use of tooth bleaching products on the human enamel surface. *Odontology* 106:64-72.
8. Khoroushi M, Shirban F, Doustfateme S, Kaveh S (2015) Effect of three nanobiomaterials on the surface roughness of bleached enamel. *Contemp Clin Dent* 6:466-470.
9. Soares GS, Ribeiro APD, Sacono NT, Loguercio AD, Hebling J, Costa CAS (2013) Mineral Loss and Morphological Changes in Dental Enamel Induced by a 16% Carbamide Peroxide Bleaching Gel. *Braz Dent J* 24:517-521.
10. Grazioli G, Valente LL, Isolan CP, Pinheiro HA, Duarte CG, Münchow (2018) Bleaching and enamel surface interactions resulting from the use of highly-concentrated bleaching gels. *Arch Oral Biol* 87:157-162.
11. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM (2011) Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 39:430-437.

12. Wang Z et al (2011) The dentine remineralization activity of a desensitizing bioactive glass-containing toothpaste: an in vitro study. *Aust Dent J* 56:372-381.
13. Golpayegani MV, Sohrabi A, Biria M, Ansari G (2012) Remineralization effect of topical NovaMin versus sodium fluoride (1.1%) on caries-like lesions in permanente teeth. *J Dent* 9:68-75.
14. Palaniswamy UK, Prashar N, Kaushik M, Lakkam SR, Arya S, Pebbeti S (2016) A comparative evaluation of remineralizing ability of bioactive glass and amorphous calcium phosphate casein phosphopeptide on early enamel lesion. *Dent Res J* 13:297-302.
15. Mony S, Rao A, Shenoy R, Suprabha BS (2015) Comparative evaluation of the remineralizing efficacy of calcium sodium phosphosilicate agent and fluoride based on quantitative and qualitative analysis. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 33:291-295.
16. Fleiss J (1986) *The Design and Analysis of Clinical Experiments*. Wiley, New York.
17. Kulal R, Jayanti I, Sambashivaiah S, Bilchodmath S (2016) An in-vitro comparison of Nano hydroxiapatite, NovaMin and Proargin desensitizing toothpastes – a SEM study. *J Clin Diagn Res* 10:51-54.
18. Kidd EA, Fejerskov O (2004) What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 83:C35-C38.
19. Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, Vrese M (2003) Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization – an in situ pilot study. *Clin Oral Invest* 7:151-161.
20. Luczaj-Cepowicz E, Marczuk-Kolada G, Obidzinska M, Sidun J (2019) Diagnostic validity of the use of ICDAS II and DIAGNOdent pen verified by micro-computed tomography for the detection of occlusal caries lesions—an in vitro evaluation. *Lasers Med Sci* 34:1655-1663.

## Figures



**Figure 1.** Bland-Altman plot for inter-rater agreement of surface reflection intensity (SRI) values for rater 1 (R1) and rater 2 (R2). R1-R2 indicates the difference in SRI values between the raters; average of R1 and R2 indicates the average of SRI values between raters.



**Figure 2.** Behavior of surface reflection intensity (SRI) values in each moment of evaluation (T0, T1, T2, T3, T4), according to groups. B = immediately after bleaching; D= immediately after desensitizing toothpaste application.

## Tables

**Table 1.** Description of bleaching agent, desensitizing toothpastes and their modes of use.

Products	Commercial name (Manufacturer)	Mode of use
Bleaching agent	Whiteness HP (FGM, Joinville, SC, Brazil)	Mix peroxide phase with thickening phase, cover buccal tooth surface with a layer of gel. Make 3 applications of 15 minutes each, per session
Toothpaste 1	Sensodyne Repair & Protect (GSK, São Paulo, SP Brazil)	
Toothpaste 2	Colgate Sensitive Pro-relief (Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brazil)	In low speed, apply toothpaste on tooth surface and brush for 60 seconds
Toothpaste 3	Elmex Sensitive (Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brazil)	



**Table 2.** Median and interquartile range of enamel surface reflection intensity (SRI), according to moments of evaluation.

Groups	Moments of SRI evaluation*							
	T0	B_T1	D_T1	B_T2	D_T2	B_T3	D_T3	T4
G1	22.84±5.11 <sup>Ab</sup>	21.13±3.50 <sup>Ab</sup>	-	21.88±2.49 <sup>Ab</sup>	-	23.75±2.00 <sup>Ab</sup>	-	24.63±2.16 <sup>Aa</sup>
G2	22.43±4.83 <sup>Aa</sup>	21.14±6.98 <sup>Aa</sup>	18.95±11.25 <sup>Aa</sup>	23.20±6.87 <sup>Aa</sup>	15.51±6.55 <sup>Aa</sup>	21.54±6.75 <sup>Aa</sup>	13.67±5.89 <sup>Aa</sup>	22.87±4.43 <sup>ABa</sup>
G3	21.79±2.53 <sup>Aa</sup>	19.28±3.77 <sup>Aab</sup>	14.69±7.97 <sup>Aab</sup>	18.29±5.29 <sup>Aab</sup>	11.33±4.13 <sup>Aab</sup>	21.33±6.66 <sup>Aab</sup>	11.51±4.50 <sup>Ab</sup>	20.42±7.28 <sup>ABab</sup>
G4	22.07±3.00 <sup>Aa</sup>	17.14±5.11 <sup>Aabc</sup>	16.40±5.96 <sup>Aabc</sup>	16.89±7.11 <sup>Aabc</sup>	13.85±8.18 <sup>Abc</sup>	18.20±10.35 <sup>Aabc</sup>	10.75±5.48 <sup>Abc</sup>	19.85±7.44 <sup>ABabc</sup>
G5	22.75±3.64 <sup>Aa</sup>	22.61±2.46 <sup>Aa</sup>	17.16±1.60 <sup>Aa</sup>	21.67±3.42 <sup>Aa</sup>	12.37±4.76 <sup>Aa</sup>	23.03±6.16 <sup>Aa</sup>	13.14±5.66 <sup>Aa</sup>	22.03±5.39 <sup>Ba</sup>
G6	23.03±6.91 <sup>Aa</sup>	21.28±3.75 <sup>Aabc</sup>	15.38±6.52 <sup>Aabc</sup>	17.17±4.07 <sup>Aabc</sup>	10.87±5.61 <sup>Abc</sup>	18.22±3.77 <sup>Aabc</sup>	11.47±11.27 <sup>Abc</sup>	16.87±1.34 <sup>ABabc</sup>
G7	22.58±6.02 <sup>Aa</sup>	23.56±5.61 <sup>Aac</sup>	15.82±7.07 <sup>Aabc</sup>	18.33±5.00 <sup>Aabc</sup>	11.29±7.23 <sup>Ab</sup>	18.42±3.57 <sup>Aabc</sup>	14.33±8.57 <sup>Aabc</sup>	20.36±3.34 <sup>ABabc</sup>

Different uppercase letters indicate significant difference among rows/groups (Kruskal-Wallis test after Dunn-Bonferroni correction). Different lowercase letters indicate significant difference between columns/times (Friedman test after Dunn-Bonferroni correction). \*Not reported in a chronologic order for all groups. B = after bleaching; D = after desensitizing toothpaste application.

**Table 3.** Pearson correlation between surface reflection intensity (SRI) at T4 and shade (L\* and b\*) and roughness (Ra, RMS) at T4.

	<b>r</b>	<b>p value</b>
<b>L* shade parameter</b>	-0.292	0.117
<b>b* shade parameter</b>	-0.043	0.821
<b>Ra</b>	-0.602	0.001
<b>RMS</b>	-0.501	0.006

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo experimental *in vitro* foi delineado para responder à seguinte questão: dentifrícios dessensibilizantes podem ser associados ao clareamento dental, para promoção da recuperação da rugosidade e dureza da superfície do esmalte, sem alterar a cor e a refletividade do esmalte? Além disso, o experimento testou a reprodutibilidade de um protótipo de reflectômetro óptico (Optipen 2) e a correlação das medidas de refletividade superficial com a rugosidade e a cor do esmalte clareado.

A partir dos resultados apresentados, pode-se concluir que, exceto o dentifrício Colgate Sensitive Pró-alívio aplicado após o clareamento dental, os dentifrícios dessensibilizantes testados podem ser aplicados antes ou após o clareamento dental, sem afetar a nanodureza, a rugosidade, a cor e a refletividade final do esmalte dentário. Esses achados permitem inferir a recomendação de que o clínico utilize agentes dessensibilizantes associados ao clareamento com segurança, tanto para tratamento como para prevenção da hipersensibilidade dentinária associada ao clareamento.

As análises de rugosidade de superfície e de nanoindentação em esmalte realizadas com Microscopia de Força Atômica se mostraram confiáveis e de fácil execução, apesar do alto custo e do prolongado tempo necessário para obtenção dos dados. Além disso, os resultados do presente estudo confirmaram a correlação inversa entre refletividade e rugosidade superficial do esmalte e mostraram a excelente reprodutibilidade das medidas do reflectômetro óptico, validando seu uso para mensuração de refletividade de esmalte em dentes clareados, e reafirmando sua potencial aplicabilidade clínica. Essa mensuração pode ser relevante para que o profissional identifique precocemente as mudanças da rugosidade superficial de esmalte como efeito colateral do clareamento e busque terapias para sua resolução.

Esse estudo *in vitro* empregou um modelo de simulação das condições intrabucais e apresenta limitações, como a utilização de dentes bovinos e de saliva artificial, assim como tamanho amostral restrito devido ao custo e à complexidade das análises microscópicas. A extrapolação dos resultados para a aplicação clínica deve ser feita com cautela, sendo necessários estudos clínicos para confirmar os

comportamentos observados e o efeito dos dentifrícios no alívio da hipersensibilidade dentinária transitória devido ao clareamento.

## REFERÊNCIAS

ABE, A. T.; YOUSSEF, M. N.; TURBINO, M. L. Effect of bleaching agents on the nanohardness of tooth enamel, composite resin, and the tooth-restoration interface. **Operative Dentistry**, v. 41, p. 44-52, 2016.

ALENCAR, C. M. *et al.* Effect of strontium chloride and 5% potassium nitrate with fluoride on bleached bovine enamel. **The Open Dentistry Journal**, v. 11, p. 476-484, 2017.

ARANTES, D. C. *et al.* Comparison of clinical efficacy of Pro-argin and NovaMin toothpastes in relieving dentin hypersensitivity: a systematic review and meta-analysis. **Oral Health and Preventive Dentistry**, v. 17, n. 5, p. 403-412, 2019.

ATTIN, T. *et al.* Influence of carbamide peroxide on enamel fluoride uptake. **Journal of Dentistry**, v. 34, n. 9, p. 668-675, 2006.

ATTIN, T; KIELBASSA, A. M.; SCHWANENBERG, M.; HELLWIG, E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 24, n. 4, p. 282-286, 1997.

ATTIN, T; SCHMIDLIN, P. R.; WEGEHAUPT, F.; WIEGAND, A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. **Dental Materials**, v. 25, n. 2, p. 143-157, 2009.

BARATIERI, L. N., MONTEIRO JR, S. *et al.* **Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades**. São Paulo: Santos, 2017.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The Lancet**, v. 1, n. 8476, p. 307-310, 1986.

BONAFÉ, E.; LOGUERCIO, A. D.; REIS, A.; KOSSATZ, S. Effectiveness of a desensitizing agent before in-office tooth bleaching in restored teeth. **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 3, p. 839-845.

BRÄNNSTRÖM, M.; ASTROM, A. A study on the mechanism of pain elicited by dentin. **Journal of Dental Research**, v. 43, p. 619-625, 1964.

BUCHALLA, W.; ATTIN, T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser: a systematic review. **Dental Materials**, v. 23, n. 5, p. 586-596, 2007.

CAREY, C. M. Tooth whitening: what we now know. **Journal of Evidence-Based Dental Practice**, v. 14, suppl, p. 70-76, 2014.

CARVALHO, T. S. *et al.* In vitro validation of a hand-held optical reflectometer to measure clinically observed erosive tooth wear. **Lasers in Medical Science**, v. 31, p. 1105-1112, 2016.

CHEN, C. L.; PAROLIA, A.; PAU, A.; PORTO, I. C. C. M. Comparative evaluation of the effectiveness of desensitizing agents in dentine tubule occlusion using scanning electron microscopy. **Australian Dental Journal**, v. 60, p. 65-72, 2015.

CHINA, A. L. P. *et al.* Effect of fluoride gels on microhardness and surface roughness of bleached enamel. **The Open Dentistry Journal**, v. 8, p. 188-193, 2014.

CUNHA, F. B. *et al.* Effect of high concentrated fluoride-based dentifrice on the hardness, roughness, and color of the bleached enamel. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 21, n. 4, p. 433-437, 2018.

FLEISS, J. **The Design and Analysis of Clinical Experiments**. New York: Wiley, 1986.

GJORGIEVSKA, E.; NICHOLSON, J. W. Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. **Australian Dental Journal**, v. 56, p. 193-200, 2011.

GOLPAYEGANI, M. V.; SOHRABI, A.; BIRIA, M.; ANSARI, G. Remineralization effect of topical NovaMin versus sodium fluoride (1.1%) on caries-like lesions in permanent teeth. **Journal of Dentistry**, v. 9, n. 1, p. 68-75, 2012.

JENA, A.; SHASHIEKHA, G. Comparison of efficacy of three different desensitizing agents for in-office relief of dentin hypersensitivity: a 4 weeks clinical study. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 18, n. 5, p. 389-95, 2015.

JOINER, A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. **Journal of Dentistry**, v. 35, n. 12, p. 889-896, 2007.

JOINER, A.; THAKKER, G.; COOPER, Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2004.

KIELBASSA, A. M.; MAIER, M.; GIEREN, A. K.; ELIAV, E. Tooth sensitivity during and after vital tooth bleaching: a systematic review on an unsolved problem. **Quintessence International**, v. 46, p. 881-897, 2015.

KIM, Y. S.; KWON, H. K.; KIM, B. I. Effect of nano-carbonate apatite to prevent re-stain after dental bleaching in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 39, n. 9, p. 636-642, 2011.

KWON, S. R.; WERTZ, P. W. Review of the mechanism of tooth whitening. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 27, n. 5, p. 240-257, 2015.

KLARIĆ, E. *et al.* Surface changes of enamel and dentin after two different bleaching procedures. **Acta Clinica Croatica**, v. 52, n. 4, p. 419-429, 2013.

KOSSATZ, S.; MARTINS, G.; LOGUERCIO, A. D.; REIS, A. Tooth sensitivity and bleaching effectiveness associated with use of a calcium-containing in-office bleaching gel. **The Journal of the American Dental Association**, v. 143, n. 12, e81-e87, 2012.

KULAL, R.; JAYANTI, I.; SAMBASHIVAIAH, S.; BILCHODMATH, S. An in-vitro comparison of Nano hydroxiapatite, NovaMin and Proargin desensitizing toothpastes – a SEM study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 10, n. 10, p. 51-54, 2016.

KUTUK, Z. B.; ERGIN, E.; CAKIR, F. Y.; GURGAN, S. Effects of in-office bleaching agent combined with different desensitizing agents on enamel. **Journal of Applied Oral Science**, v. 27, e20180233, 2019.

LOGUERCIO, A. D. *et al.* Effectiveness of nano-calcium phosphate paste on sensitivity during and after bleaching: a randomized clinical trial. **Brazilian Oral Research**, v. 29, p. 1-7, 2015.

LUQUE-MARTINEZ, I. *et al.* Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, n. 7, p. 1419-1433, 2016.

MAGNO, M. B. *et al.* Difference in effectiveness between strontium acetate and arginine-based. **American Journal of Dentistry**, v. 28, p. 40-44, 2015.

MAJJI, P.; MURTHY, K. R. V. Clinical efficacy of four interventions in the reduction of dentinal hypersensitivity: a 2-month study. **Journal of Dental Research**, v. 27, n. 5, p. 477-482, 2016.

MARAN, B. M. *et al.* A. In-office dental bleaching with light vs. without light: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Dentistry**, v. 70, p. 1-13, 2018.

MARKOWITZ, K. Pretty painful: why does tooth bleaching hurt? **Medical Hypotheses**, v. 74, p. 835-840, 2010.

MEI, L.; BUSSCHER, H. J.; VAN DER MEI, H. C.; REN, Y. Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to composite resins. **Dental Materials**, v. 27, n. 8, p. 770-778, 2011.

MONCADA, G. *et al.* Effects of light activation, agent concentration, and tooth thickness on dental sensitivity after bleaching. **Operative Dentistry**, v. 38, n. 5, p. 467-476, 2013.

MORASCHINI, V.; COSTA, L. S.; SANTOS, G. O. Effectiveness for dentin hypersensitivity treatment of non-cariou cervical lesions: a meta-analysis. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, n. 2, p. 617-631, 2018.

OLIVEIRA, R. P. *et al.* Influence of time intervals between bleaching procedures on enamel microhardness and surface roughness. **The Open Dentistry Journal**, v. 12, p. 555-559, 2018.

PENMETSA, G. S.; KOLLATI, P.; DWARAKANATH, C. D. D. Comparative evaluation of the efficacy of NovaMin and pro-argin in reducing dentinal hypersensitivity: a double blind randomized controlled clinical trial. **Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research**, v. 4, n. 3, p. 14-20, 2016.

PINTADO-PALOMINO, K.; TIRAPELLI, C. The effect of home-use and in-office bleaching treatments combined with experimental desensitizing agents on enamel and dentin. **European Journal of Dentistry**, v. 9, n. 1, p. 66-73, 2015.



PINTO, C. F.; OLIVEIRA, R.; CAVALLI, V.; GIANNINI, M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. **Brazilian Oral Research**, v. 18, n. 4, p. 306-311, 2004.

POLYDOROU, O. *et al.* The effect of long-term use of tooth bleaching products on the human enamel surface. **Odontology**, v. 106, p. 64-72, 2018.

RAJESH, K.; HEDGE, S.; KUMAR, M. A.; SHETTY, D. Evaluation of the efficacy of a 5% calcium sodium phosphosilicate (NovaMin) containing dentifrice for the relief of dentinal hypersensitivity: a clinical study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 23, n. 3, p. 363-369, 2012.

RAKHMATULLINA, E. *et al.* Optical pen-size reflectometer for monitoring of early dental erosion in native and polished enamels. **Journal of Biomedical Optics**, v. 18, 117009, 2013.

SAMUEL, S. R.; KHATRI, S. G.; ACHARYA, S.; PATIL, S. T. Evaluation of instant desensitization after a single topical application over 30 days: a randomized trial. **Australian Dental Journal**, v. 60, p. 336-342, 2015.

SERRAGLIO, C. R.; ZANELLA, L.; DALLA-VECCHIA, K. B.; RODRIGUES JUNIOR, S. A. Efficacy and safety of over-the-counter whitening strips as compared to home-whitening with 10 % carbamide peroxide gel—systematic review of RCTs and metanalysis. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, p. 1-14, 2016.

SHARIF, M. O.; IRAM, S.; BRUNTON, P. A. Effectiveness of arginine-containing toothpastes in treating dentine hypersensitivity: A systematic review. **Journal of Dentistry**, v. 41, p. 483-492, 2013.

SILVA, A. L. F.; NAHSAN, F. P. S.; FERNANDES, M. T. G.; MARTINS FILHO, P. R. S. Effect of preventive use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on sensitivity after dental bleaching. **The Journal of the American Dental Association**, v. 146, n. 2, p. 87-93, 2015.

SOARES, G. S. *et al.* Mineral loss and morphological changes in dental enamel induced by a 16% carbamide peroxide bleaching gel. **Brazilian Dental Journal**, v. 24, n. 5, p. 517-521, 2013.

SOARES, P. V.; GRIPPO, J. O. **Lesões cervicais não cariosas e hipersensibilidade dentinária**. Quintessence: São Paulo, 2017. 244p.

SOUTO-MAIOR, J. R. *et al.* Effectiveness of light sources on in-office dental bleaching: A systematic review and meta-analyses. **Operative Dentistry**, v. 44, n. 3, E105-E117, 2019.

VIEIRA-JUNIOR, W. F. *et al.* Effect of toothpaste application prior to dental bleaching on whiteness effectiveness and enamel properties. **Operative Dentistry**, v. 41, n. 1, E29-38, 2016.

WANG, Z. *et al.* The dentine remineralization activity of a desensitizing bioactive glass-containing toothpaste: an *in vitro* study. **Australian Dental Journal**, v. 56, p. 372-381, 2011.

ZANOLLA, J. *et al.* Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. **Australian Dental Journal**, v. 62, n. 3, p. 276-282, 2017.

ZANTNER, C.; BEHEIM-SCHWARZBACH, N.; NEUMANN, K.; KIELBASSA, A. M. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. **Dental Materials**, v. 23, n. 2, p. 243-250, 2007.

ZHU, M. *et al.* The effect of calcium sodium phosphosilicate on dentin hypersensitivity: a systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 10, n. 11, e0140176, 2015.