

SAMIRA ESTEVES AFONSO CAMARGO

**PENETRAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO 38% NO INTERIOR
DA CÂMARA PULPAR DE DENTES BOVINOS E HUMANOS COM OU
SEM RESTAURAÇÃO SUBMETIDOS AO CLAREAMENTO EXTERNO**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de São José dos
Campos Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de MESTRE, pelo Programa de
Pós-Graduação em ODONTOLOGIA
RESTAURADORA, Especialidade em
Endodontia

DECICATÓRIA

À Deus

Àquele que me deu a vida, ofereço toda a honra e toda glória. Obrigada, Senhor, pois em todos os momentos o Senhor esteve presente abençoando os caminhos que percorri. Assim pude descansar em Ti.

“Venham, a mim, todos que estão cansados e sobrecarregados, e eu os aliviarei. Tomem sobre vocês o meu jugo e aprendam de mim, pois sou manso e humilde de coração, e vocês encontrarão descanso para suas almas. Pois o meu jugo é suave e o meu fardo é leve”

Mateus 11:28-30

“Como são felizes os que em ti encontram sua força, e os que são peregrinos de coração”

Salmo 84:5

“Os que conhecem o teu nome confiam em ti, pois tu Senhor, jamais abandonas os que o buscam”

Salmo 9: 10

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu amado Ique

Saber que eu podia contar com seu apoio e compreensão e principalmente com seu amor me deu forças para que eu pudesse concluir mais esta etapa de minha vida. Em você tenho, além de um exemplo profissional, alguém que tem um coração bondoso sempre disposto a perdoar. Que nós continuemos compartilhando todos os momentos na presença de amor e de nosso Senhor Jesus.

Aos meus queridos pais Sérgio e Rose

Foi com muito amor e dedicação que vocês me deram a oportunidade para que eu pudesse estudar e chegar até aqui. Vocês sempre estiveram presentes nos momentos de alegria para festejar e prontos para me confortar nas horas de aflição. Na vida, me ensinaram a ser humilde, respeitar e principalmente amar as pessoas fazendo com que eu pudesse me tornar uma pessoa melhor a cada dia. Hoje sou o fruto do que vocês plantaram e cuidaram com tanto amor e carinho. Por isso ofereço a vocês toda minha gratidão e todo meu amor.

Ao meu querido irmão Júlio

Como irmãos, somos também amigos inseparáveis. Em todos os momentos de minha vida sempre pude contar com seu apoio e com suas palavras de amor. Sinto-me feliz porque tenho em você alguém em que posso confiar. A você, meu muito obrigada, com muito amor.

À querida prof^a Márcia

Dedico minha sabedoria e respeito, porque você foi mais que professora, foi amiga, me consolando nos momentos de tristeza e participando com alegria de minhas conquistas. E acreditou fielmente que tudo ia dar certo, segurando nas minhas mãos, e senti o calor humano e profissional com que se dedica ao ensino, e por isso quero te dizer muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP pelo incentivo durante o desenvolvimento do curso.

À Prof^a Maria Nadir pela paciência ao me ensinar com muita destreza e sabedoria a parte de Bioquímica aplicada neste trabalho.

Aos amigos da pós – graduação: Andressa, Carolina, Cristiani, Janaína, Leily, Lia, Maristela, Paula Elaine, Patrícia Itocazo, Patrícia Marra, Renato, Rodrigo, Tereza, Thaís e Valdeci pela amizade construída durante o curso de Mestrado.

Em especial, aos amigos Lia, Renatinho, Leily e Andressa pela amizade e incentivo que me deram durante a execução deste trabalho.

À amiga Paula Elaine pela amizade sincera, dedicação e carinho em todos os momentos do curso de mestrado.

Às amigas Manuela e Juliana, pela forte amizade que nos une desde a graduação e pelo apoio que dedicaram a mim.

Ao Seu Josué e Dona Carolina pelo carinho e incentivo dedicados a mim.

Aos casais Gi e Léo, Marcelo e Tati, Eduardo e Ana, Lívia e Adler, Domício e Tati pela amizade e pelos momentos de descontração que passamos juntos.

Ao Emmannuel, meu irmão na fé, que com suas palavras de amor e bênção me aproximou mais do Senhor Jesus.

Aos amigos do grupo de oração: Bia, Marcio, Luciane, Claudio, Marcia Maciel, Simone, Elaine, Isamarta, Evanice, Helena, Vinicius, Leonardo, Isa, Peruque, Vanessa pelas orações que me sustentaram durante este trabalho.

Aos amigos, Cláudio e Lú pela grande amizade, que se fortalece em Cristo Jesus, carinho e palavras de incentivo dedicadas a mim

Aos amigos Simone e Beto pela amizade e carinho e principalmente pelo incentivo que me deram em relação à profissão.

À Márcia Maciel, pelo carinho e por ser sempre muito prestativa em todos os momentos que precisei.

À minha querida amiga Renata que mesmo distante, esteve presente e sempre disposta a dar palavras de amor.

À Mariana Pretti, pela dedicação em ajudar na realização da parte prática deste trabalho.

Ao Gabriel, pelos cuidados com os materiais permanentes utilizados neste trabalho.

Aos amigos da pós – graduação da área de Prótese: Alberto, Alfredo, Fernanda, Gilberto, Graziela, Renata Melo, Renata e Renato pela amizade e trabalhos realizados juntos.

Ao Prof. Ivan Balducci que com muita sabedoria realizou a estatística deste trabalho.

Ao Prof. Clovis Pagani pela competência e dedicação ao exercer o cargo de coordenador da Pós- Graduação da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP.

Aos docentes do Departamento de Odontologia Restauradora: Alberto Siqueira e Silva, Ana Paula Martins Gomes, Carlos Torres, Carlos Henrique Ribeiro Camargo, Cláudio Talge, Clovis Pagani, João Cândido Carvalho, José Roberto Rodrigues, Maria Amélia Máximo de Araújo, Marcia Carneiro Valera, Sérgio Eduardo P. Gonçalves pelos ensinamentos que me foram concedidos.

Às secretárias do Departamento de Odontologia Restauradora da FOSJC; Cida, Desirrê e em especial à Rosângela que foi muito prestativa quando a solicitei. Às técnicas Josiana e Michele pela orientação laboratorial. Ao técnico Domingos pela atenção dispensada.

Às bibliotecárias da FOSJC: Dora, Silvana, Ana, Fátima, Neide, Renata e Sônia, em especial à Ângela de Brito Bellini pela contribuição e considerações feitas na elaboração deste trabalho.

Às secretárias da Pós – Graduação; Rosemary, Erena e Cida pelo cuidado na orientação e esclarecimentos prestados durante este curso.

Ao Carlos Guedes, por me ajudar, sempre com bom humor e disposição, nos assuntos relacionados ao financiamento FAPESP.

À FAPESP pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

A todos os funcionários da FOSJC que direta ou indiretamente muito contribuíram no convívio diário.

Amar é olhar para dentro de si mesmo, e dizer:
Eu quero
É viver intensamente
É sonhar com uma gota de realidade
e realizar uma gota desse sonho
É estar presente até na ausência.
Amar é ter em quem pensar
É razão que ninguém teria razão para nos tirar
É ser só de alguém e nunca deixar esse alguém só
É pensar em você tão alto a ponto de você escutar
É acordar para a realidade do sonho
É vencer através do silêncio
É ser feliz até com um pouco quando muito não é bastante.
Amar é dar anistia ao seu coração
É sonhar o sonho de quem sonha com você
É sentir saudades
É chegar perto na distância.
Amar é a força da razão
É quando os momentos são eternos.
Amar é ser adulto e se sentir criança
É viver a vida em versos e ao inverso
É a maior experiência na vida de um homem...
Mas acima de tudo,
Amar é crer em Deus porque Deus é amor.

(Alberto Brizola)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	15
RESUMO.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 Clareamento para dentes com vitalidade pulpar.....	23
2.2 Permeabilidade das estruturas dentárias.....	28
2.3 Efeitos dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários.....	37
2.3.1 Efeito sobre esmalte, dentina e cimento.....	37
2.3.2 Efeito sobre o tecido pulpar.....	46
2.4 Efeito do agente clareador sobre os materiais restauradores....	51
2.5 Atividade enzimática dos tecidos.....	53
2.6 Substrato bovino e humano.....	58
3 PROPOSIÇÃO.....	67
4 MATERIAL E MÉTODO.....	68
4.1 Padronização do peróxido de hidrogênio.....	68
4.1.1 Preparo das soluções.....	69
4.1.2 Titulação.....	70
4.2 Levantamento da curva padrão de peróxido de hidrogênio.....	72
4.2.1 Mensuração da absorbância.....	75
4.3 Preparo dos dentes.....	78
4.3.1 Seleção e armazenamento dos dentes humanos.....	78
4.3.2 Preparo das cavidades dos dentes humanos.....	81
4.3.3 Seleção e armazenamento dos dentes bovinos.....	83
4.3.4 Preparo das cavidades dos dentes bovinos.....	85
4.4 Divisão dos grupos (Figura 19).....	87

4.5 Restauração dos dentes.....	88
4.5.1 Restaurações com resina composta.....	88
4.5.2 Restaurações com cimento ionômero de vidro convencional.	91
4.5.3 Restaurações com cimento ionômero de vidro modificado por resina.....	92
4.6 Aplicação do agente clareador.....	93
4.7 Mensuração da Absorbância.....	98
4.7.1 Quantificação do peróxido no interior da câmara pulpar.....	100
4.8 Análise Estatística.....	101
5 RESULTADOS.....	102
5.1 Comparação entre o grupo controle e os grupos experimentais	104
5.1.1 Dentes bovinos.....	104
5.1.2 Dentes humanos.....	105
5.2 Comparação entre os tipos de dentes e material restaurador....	107
5.3 Comparação entre os grupos experimentais, exceto o controle, para os dentes humanos e para os dentes bovinos....	110
6 DISCUSSÃO.....	112
6.1 Discussão da metodologia.....	112
6.2 Discussão dos resultados.....	118
7 CONCLUSÕES.....	133
8 REFERÊNCIAS.....	134
ANEXO A.....	145
ANEXO B.....	146
ANEXO C.....	147
ABSTRACT.....	148

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Reações químicas observadas pelo método de iodometria.....	68
FIGURA 2 - Fórmula aplicada no cálculo da concentração em gramas por litro da solução de peróxido de hidrogênio.....	71
FIGURA 3 - Fórmula aplicada para a obtenção das soluções padrões diluídas de peróxido de hidrogênio.....	73
FIGURA 4 - Fórmula da diluição exemplificando o cálculo dos volumes da solução de peróxido de hidrogênio empregados para a obtenção das soluções padrões.....	74
FIGURA 5 - Material utilizado no levantamento da curva padrão: a) prova em branco; b) adição de peróxido de hidrogênio; c) solução resultante da reação; d) amostras das soluções com diferentes concentrações de peróxido utilizadas no levantamento da curva padrão; e) cubeta contendo a solução a ser levada ao espectrofotômetro; f) espectrofotômetro.....	76
FIGURA 6 - Representação gráfica da curva padrão de peróxido de hidrogênio.....	77
FIGURA 7 - Fórmula empregada para se calcular o fator de calibração.....	77
FIGURA 8 - Seqüência de preparo dos dentes humanos: a) terceiro molar hígido; b) secção da raiz; c) e d) abertura e ampliação da cavidade pulpar após extirpação da polpa.....	80

FIGURA 9 -	Preparo das cavidades dos dentes humanos: a) matriz metálica onde foi confeccionado o molde; b) broca preparada e sonda milimetrada para padronização da profundidade dos preparos; c) broca preparada inserida no preparo; d) preparo cavitário; e) confecção do bisel.....	82
FIGURA 10 -	Seqüência de preparo dos dentes bovinos: a) incisivo lateral hígido; b) secção da raiz; c) e d) abertura e ampliação da cavidade pulpar após extirpação da polpa.....	84
FIGURA 11 -	Preparo das cavidades dos dentes bovinos: a) microscópio modificado para preparo da cavidade classe V; b) preparo cavitário; c) confecção do bisel.....	86
FIGURA 12 -	Resina composta Esthetic-X, Dentsply.....	89
FIGURA 13 -	Restauração dos dentes humanos com resina composta: a) condicionamento ácido; b) aplicação do sistema adesivo; c) restauração concluída; d) acabamento e polimento.....	90
FIGURA 14 -	Restauração dos dentes bovinos com resina composta: a) condicionamento ácido; b) aplicação do sistema adesivo; c) restauração concluída; d) acabamento e polimento.....	90
FIGURA 15 -	Cimento ionômero de vidro convencional (Vidrion R - SSWhite).....	91
FIGURA 16 -	Cimento ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer, 3M).....	92
FIGURA 17 -	Dentes humanos: a) área padronizada com esmalte para unhas; b) aplicação do agente clareador; Dentes bovinos: c) área padronizada com esmalte para unhas; d) aplicação do agente clareador.....	94
FIGURA 18 -	Peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Xtra Boost, Ultradent).....	94

FIGURA 19 -	Divisão dos grupos e respectivos tratamentos.....	95
FIGURA 20 -	a) Solução tampão na câmara pulpar do dente humano; b) Solução tampão na câmara pulpar do dente bovino.....	96
FIGURA 21 -	Etapas da decomposição do peróxido de hidrogênio.....	98
FIGURA 22 -	a) homogeneização da solução; b) reação completa no tubo de ensaio.....	99
FIGURA 23 -	a) colocação da solução resultante na cubeta; b) cubeta contendo a solução resultante da reação.....	99
FIGURA 24 -	Fórmula utilizada para se calcular a concentração de peróxido de hidrogênio contida em cada amostra experimental.....	100
FIGURA 25 -	Esquema <i>Box-plot</i> dos dados de penetração de peróxido de hidrogênio obtidos para as diferentes condições experimentais dos dentes bovinos (SR- sem restauração; RC- resina composta, CIV- cimento ionômero de vidro, CIV-MR- cimento ionômero de vidro modificado por resina).....	104
FIGURA 26 -	Esquema <i>Box-plot</i> dos dados de penetração de peróxido de hidrogênio obtidos para as diferentes condições experimentais dos dentes humanos (SR- sem restauração; RC- resina composta, CIV- cimento ionômero de vidro, CIV-MR- cimento ionômero de vidro modificado por resina).....	106
FIGURA 27 -	Gráfico das médias de peróxido de hidrogênio obtido para as oito condições experimentais SR- sem restauração; RC- resina composta, CIV- cimento ionômero de vidro, CIV-MR- cimento ionômero de vidro modificado por resina).....	108

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Volumes de tiosulfato de sódio gastos na titulação do peróxido de hidrogênio.....	70
Quadro 2 – Volumes de tiosulfato de sódio gastos na titulação das provas em branco.....	71
Quadro 3 – Diluições realizadas para obtenção das amostras contendo 0,25 a 2µg de peróxido de hidrogênio.....	74
Quadro 4 – Quantidades de substância colocadas nos tubos de ensaio.....	97
Quadro 5 - Dados quantitativos de penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de dentes bovinos.....	102
Quadro 6 - Dados quantitativos de penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de dentes humanos.....	103
Tabela 1 - Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para dentes bovinos.....	105
Tabela 2 - Resultados do Teste de Dunnett para dentes bovinos...	105
Tabela 3 - Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para dentes humanos.....	106
Tabela 4 - Resultados do Teste de Dunnett para dentes humanos	107
Tabela 5 - Resultados do teste estatístico da análise de variância (ANOVA) efetuado para os dados quantitativos.....	108
Tabela 6 - Média ($\pm$ desvio padrão) dos dados de peróxido de hidrogênio obtidos segundo o tipo de dente e de material restaurador.....	109
Tabela 7 - Teste de Tukey (5%) para o efeito Dente.....	110
Tabela 8 - Teste de Tukey (5%) para o efeito Material Restaurador.....	110
Tabela 9 - Resultado do teste de Tukey (5%) para os dados quantitativos.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm = centímetro

g = grama

g/l = grama por litro

l = litro

M = molar

MEV = microscopia eletrônica de varredura

mg = miligrama

mg/ml = miligrama por mililitro

ml = mililitro

min = minuto

mm = milímetro

mm² = mililitro quadrado

mol/l = mol por litro

mmol/l = milimol por litro

N = normal

nm = nanômetro

p.a. = pureza analítica

pH = potencial hidrogeniônico

s = segundo

µg = micrograma

µl = microlitro

µg/ml = micrograma por mililitro

µM = micromolar

v/v = volume/volume

w/w = peso/peso

A = volume de tiosulfato gasto na titulação da amostra

[amostra] = concentração da amostra

B = volume de tiosulfato gasto na titulação do branco

°C = graus Celsius

C = concentração da solução de peróxido de hidrogênio

C_f = concentração final

C_i = concentração inicial

F_c = fator de calibração

H⁺ = íon hidrogênio

H₂O = água

H₂O₂ = peróxido de hidrogênio

I⁻ = íon iodeto

I₂ = iodo

[O] = oxigênio nascente

O₂ = oxigênio

[solução padrão] = concentração da solução padrão

S₂O₆⁻² = tiosulfato de sódio

S₂O₃⁻² = tiosulfeto de sódio

V = volume da amostra de peróxido de hidrogênio

V_i = volume inicial

V_f = volume final

RC = resina composta

CIV = cimento ionômero de vidro

CIV – MR = cimento ionômero de vidro modificado por resina

SR = sem restauração

RESUMO

Acredita-se que a penetração de peróxido de hidrogênio através do esmalte e dentina pode causar danos à polpa. A proposta deste trabalho foi avaliar a quantidade de peróxido de hidrogênio no interior da câmara pulpar de dentes bovinos e humanos com ou sem restauração, após clareamento pela técnica de consultório. Os dentes foram seccionados 3mm à junção amelo-cementária e divididos em dois grupos: A (setenta terceiros molares humanos) e B (setenta incisivos laterais bovinos) que foram subdivididos em: A1 e B1 restaurados com resina composta (Esthetic-X, Dentsply), A2 e B2 com CIV (Vidrion-R, SSWhite), A3 e B3 com CIV modificado por resina (CIV-MR) (Vitremer, 3M); A4, A5, B4 e B5 não foram restaurados. No interior da câmara pulpar de todos os dentes foi colocado tampão acetato. Os subgrupos A1 a A4 e B1 a B4 foram expostos ao peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence XtraBoost, Ultradent) por 40 min. Os subgrupos A5 e B5 permaneceram em água deionizada por 40 min. O tampão acetato foi transferido a um tubo de ensaio reagindo com corante violeta leucocristal e peroxidase. A densidade óptica da solução foi avaliada em espectrofotômetro, os valores de absorbância convertidos em microgramas de peróxido e submetidos aos testes de Dunnett, Kruskal-Wallis, ANOVA e Tukey (5%). Verificou-se maior penetração de peróxido nos dentes bovinos ($0,79 \pm 0,61 \mu\text{g}$) e humanos ($2,27 \pm 0,41 \mu\text{g}$) restaurados com CIV-MR. A penetração do agente clareador foi maior em dentes humanos para qualquer situação experimental. Concluiu-se que a penetração de peróxido depende do material restaurador e que dentes humanos são mais susceptíveis à penetração do agente clareador para o interior da câmara pulpar do que dentes bovinos.

PALAVRAS –CHAVE: Clareamento de dente; análise de variância; peróxido de hidrogênio; polpa dentária; humano, animal.

1 INTRODUÇÃO

Ultimamente, o clareamento dental tem alcançado grande popularidade devido à demanda estética imposta pela sociedade. Para atender a esta crescente demanda de pacientes que procuram o cirurgião-dentista por razões estéticas, a indústria de produtos odontológicos vem lançando materiais e técnicas cada vez mais sofisticadas, como materiais restauradores estéticos adesivos e produtos capazes de clarear dentes manchados (HIRATA et al.⁴⁷, 1997). Contudo, em detrimento da saúde, algumas técnicas e materiais visam apenas agilidade e resultado estético.

O clareamento foi inicialmente referido como uma opção estética há cem anos atrás, embora o aumento na busca por este tratamento tenha se consolidado a partir do final da década de 80. Em 1868, dentes com vitalidade pulpar foram clareados com ácido oxálico e posteriormente com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (DARNELL & MOORE²³, 1990). No entanto, conforme cita Novais & Toledo⁶⁴, 1999, o clareamento para dentes com vitalidade pulpar foi publicado a partir do trabalho de Ames² (1937) que relatou o clareamento de dentes manchados por fluorose usando uma técnica termocatalítica. Entretanto, o clareamento para dentes com vitalidade pulpar apresentou uma grande revolução quando Haywood & Heymann⁴⁴, em 1989, apresentaram uma técnica com o uso do peróxido de carbamida 10%, na forma de gel, em que o paciente poderia clarear seus dentes utilizando o produto em sua própria residência.

As indicações para o clareamento incluem dentes escurecidos pelo envelhecimento, por ingestão de alimentos e bebidas com corantes, dentes escurecidos pelo fumo e dentes naturalmente escuros (HANOSH & HANOSH⁴¹, 1992; HAYWOOD⁴³, 2000).

Os agentes clareadores podem ser divididos em categorias diferentes: os usados em consultório; aqueles que são auto-administrados pelos pacientes, sob supervisão dos profissionais; ou ainda produtos de consumo direto do paciente. Entre os agentes clareadores utilizados no consultório, pode-se citar o peróxido de hidrogênio 30-38%, o peróxido de carbamida 35-37%, o perborato de sódio e o ácido clorídrico 18% ou 36% (NOVAIS & TOLEDO⁶⁴, 1999; SARRETT⁸⁰, 2002), enquanto que para uso doméstico pode-se empregar o peróxido de hidrogênio 3% a 9,5% ou peróxido de carbamida 10-22% (HAYWOOD⁴³, 2000).

O peróxido de hidrogênio é um composto oxidante instável que apresenta baixo peso molecular e têm a capacidade de produzir radicais livres e se decompõe rapidamente quando exposto ao ar em temperatura ambiente (GOLDSTEIN et al.³⁶, 1989; DARNELL & MOORE²³, 1990; GOLDSTEIN & GARBER³⁷, 1995).

Embora pesquisas examinem os efeitos dos agentes clareadores sobre os tecidos duros dentários, o exato mecanismo de ação ainda não está totalmente esclarecido (HEGEDÜS et al.⁴⁵, 1999; CONSOLARO²¹, 2002). Entretanto, um agente clareador ideal deveria possuir ação rápida e seletiva, sem causar danos aos tecidos dentários e nem a outros tecidos bucais (YURDUKORU et al.⁹⁸, 2003).

Sabe-se que o mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio ou carbamida é semelhante, uma vez que o peróxido de carbamida dissocia-se em peróxido de hidrogênio e uréia (GERLACH & ZHOU³², 2001). Supõe-se que durante o clareamento, compostos com anéis de carbono altamente pigmentados são abertos e convertidos em cadeias mais claras, tendo como subprodutos dióxido de carbono e água (BARATIERI et al.⁹, 1996; KAWAMOTO & TSUJIMOTO⁵⁰, 2004). Para isto, o peróxido de hidrogênio penetra no interior do esmalte e dentina (DARNELL & MOORE²³, 1990), devido a permeabilidade e porosidade destes tecidos, que associado ao seu baixo peso molecular (agentes

clareadores) penetra e tem livre movimentação na estrutura dental (NOVAIS & TOLEDO⁶⁴, 1999; GOKAY et al.³³, 2004).

As técnicas de clareamento para dentes com vitalidade pulpar podem ser realizadas pelo cirurgião-dentista, em consultório, pelo próprio paciente, técnica caseira, ou associação das técnicas caseira e de consultório (SPALDING et al.⁸³, 2003; GOKAY et al.³³, 2004).

A técnica de consultório empregada no clareamento de dentes com e sem vitalidade pulpar adota concentrações mais elevadas de peróxido (BARATIERI et al.⁹, 1996) e apresenta como vantagens o fato de não necessitar da colaboração do paciente e de permitir resultados imediatos (PAPATHANASIOU et al.⁶⁹, 2002), além de possibilitar o clareamento de apenas alguns dentes (ARAÚJO et al.⁴, 2005). Enquanto que, a técnica caseira, por utilizar agentes clareadores com menor concentração, pode provocar menor sensibilidade dentária, requer menor tempo clínico (NATHANSON⁶³, 1997), entretanto, necessita da colaboração do paciente.

Embora as técnicas de clareamento conduzam a resultados estéticos favoráveis, sabe-se que os produtos utilizados neste procedimento apresentam efeitos biológicos aos tecidos humanos. Nas técnicas de clareamento para dentes com vitalidade pulpar uma das grandes preocupações refere-se à penetração de peróxidos para o interior do esmalte e dentina, atingindo a polpa, entretanto, os efeitos desta passagem do peróxido de hidrogênio ainda são contraditórios (HANKS et al.⁴⁰, 1993; THITINANTHAPAN et al.⁸⁸, 1999; GOKAY et al.³⁴⁻³⁵, 2000; GOKAY et al.³³, 2004; BENETTI et al.¹¹, 2004).

Alguns autores consideram a utilização de agentes clareadores um procedimento seguro (COHEN & CHASE¹⁹, 1979). Por outro lado, vários estudos demonstram que os peróxidos podem provocar irritação tecidual (ROBERTSON & MELFI⁷⁵, 1980; HANKS et al.⁴⁰, 1993; KWONG et al.⁵¹, 1993; LEONARD JUNIOR et al.⁵³, 1997; NATHANSON⁶³, 1997). As respostas pulpares são comuns, embora a maioria dos estudos as

considere reversíveis desde que a utilização dos agentes clareadores seja adequada (SEALE & WILSON⁸¹, 1985; FEINMAN²⁶, 1994).

Preocupados com as possíveis alterações dos tecidos, estudos de citotoxicidade têm sido desenvolvidos na tentativa de verificar como o tecido pulpar responde à agressão provocada pela liberação de peróxidos (HANKS et al.⁴⁰, 1993). Frente ao estresse oxidativo, sugere-se que a polpa se defenda através da produção de peroxidase e catalase, promovendo a degradação enzimática do peróxido de hidrogênio. Porém, Bowles & Burns¹⁴ (1992) verificaram que o peróxido inativa a ação destas enzimas, apresentando, portanto, potencial tóxico. Acredita-se que um mecanismo alternativo de defesa dos odontoblastos deva-se à produção de heme-oxigenase I, uma enzima protetora cuja produção encontra-se aumentada em situações de estresse oxidativo (ANDERSON et al.³, 1999).

Alguns estudos relatam ainda que a penetração de peróxidos para o interior da câmara pulpar de dentes restaurados e submetidos ao clareamento é maior do que em dentes hígidos e, portanto, ocasiona maior sensibilidade pulpar (GOKAY et al.³⁴⁻³⁵, 2000; BENETTI et al.¹¹, 2004). A contração de polimerização, estresse térmico, sorpção de água pelo material restaurador são alguns dos fatores que podem resultar em fendas na interface dente-restauração e facilitar a infiltração de peróxidos para o interior da câmara pulpar (OWENS et al.⁶⁷, 1998). Assim, é importante ressaltar que cuidados maiores devem ser tomados durante o clareamento de pacientes que possuem muitos dentes restaurados.

Os trabalhos anteriormente citados mostram que a penetração de peróxidos para o interior da câmara pulpar pode ser prejudicial ao tecido pulpar. Esta penetração foi confirmada por Hanks et al.⁴⁰ (1993), Thitinanthapan et al.⁸⁸ (1999), Gokay et al.³⁴⁻³⁵ (2000), Gokay et al.³³ (2004) e Benetti et al.¹¹ (2004), que quantificaram o peróxido de hidrogênio que penetrou através do esmalte e da dentina verificando que esta penetração foi diferente entre os produtos disponíveis, dependendo

da concentração e do tempo de aplicação, além da presença ou ausência de restaurações, portanto, podendo causar danos importantes à polpa. Além disso, o dente e suas características estruturais e morfológicas também podem influenciar no grau de penetração dos agentes clareadores para o interior da cavidade pulpar. Uma vez que, atualmente, devido especialmente a problemas éticos existem grandes dificuldades em realizar pesquisa em dentes humanos, sendo uma alternativa a utilização de dentes bovinos.

Estas considerações levaram-nos a avaliar a penetração de peróxido de hidrogênio a partir de um agente clareador de consultório para o interior da câmara pulpar de dentes humanos e bovinos com ou sem restauração.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para melhor compreensão este capítulo foi subdividido. Primeiramente, descreveu-se os agentes e técnicas clareadoras para dentes com vitalidade pulpar, permeabilidade das estruturas dentárias aos agentes clareadores, efeitos destes agentes sobre os tecidos dentários e sobre os materiais restauradores e ação enzimática dos tecidos, quando submetidos aos agentes clareadores. Uma vez que na metodologia desta pesquisa foram utilizados dentes humanos e bovinos, realizou-se uma breve revisão sobre as principais características destes dentes.

2.1 Clareamento para dentes com vitalidade pulpar

Dentro de uma sociedade na qual a estética é um fator primordial, existe a vontade e a necessidade do paciente, por razões sociais e profissionais, de clarear os dentes. Goldstein et al.³⁶ (1989) ressaltam que há mais de um século o clareamento é eficaz no tratamento de manchamentos dentários. Os autores consideram o clareamento como tratamento de escolha, embora também possa ser realizado em associações a restaurações adesivas, facetas laminadas de porcelana ou tratamentos protéticos para a obtenção do clareamento de um sorriso inteiro. O peróxido de hidrogênio, utilizado para o clareamento, apresenta baixo peso molecular e habilidade de desnaturar proteínas, o que aumenta a movimentação de íons através da estrutura dentária. Embora exista preocupação quanto à permeabilidade das estruturas dentárias ao peróxido de hidrogênio, especialmente seu potencial de penetração para o interior do esmalte e dentina, este peróxido é o agente clareador de escolha.

O clareamento dental para dentes com vitalidade pulpar foi utilizado inicialmente na eliminação de manchas de fluorose. McEvoy⁵⁹ (1989) descreveu a evolução do tratamento clareador, que consistia primeiramente da aplicação de ácido clorídrico 18% e calor, sendo posteriormente introduzido o peróxido de hidrogênio 100% misturado ao éter, também aplicado com instrumento aquecido. A partir da década de 30, o peróxido de hidrogênio empregado tornou-se menos concentrado e as soluções de peróxido de hidrogênio 30% podiam ou não ser adicionadas de éter ou ácido clorídrico e eram aplicadas principalmente com o uso associado de calor. As sessões variavam de 20 a 30 minutos, sendo que ao final da década de 80 foi instituído o condicionamento ácido prévio da superfície do esmalte para facilitar a ação do peróxido de hidrogênio sobre a estrutura dental.

Em 1989, Haywood & Heymann⁴⁴ descreveram uma técnica inovadora para o clareamento de dentes com vitalidade pulpar, que consiste na aplicação do agente clareador, peróxido de carbamida, em uma moldeira plástica individual, recobrindo as superfícies dentárias com mínima sobreposição aos tecidos gengivais, utilizada pelo paciente durante à noite. Após a adaptação da moldeira, cada espaço correspondente ao dente a ser clareado era preenchido com duas a três gotas de peróxido de carbamida 10%. O material era removido pela manhã durante a escovação dos dentes. Os resultados da exposição de sete a oito horas, durante cinco semanas de tratamento, mostraram que os dentes clarearam o equivalente a dois tons da escala Vita. O clareamento caseiro noturno tornou-se uma alternativa eficaz ao método de clareamento convencional e passou a ser indicado pelos autores como primeira opção de tratamento.

Leone et al.⁵⁴ (1993) realizaram uma revisão da literatura sobre os sistemas de clareamento de dentes com vitalidade pulpar disponíveis, analisando o sistema de clareamento caseiro e clínico. Na técnica de consultório utiliza-se o peróxido de carbamida e de hidrogênio em

concentrações mais elevadas, ao passo que os métodos caseiros adotam geralmente baixas concentrações de peróxido de carbamida. As técnicas de clareamento dental constituem-se de uma alternativa conservadora, de fácil execução e baixo custo para o tratamento de manchamentos dentários. Entretanto, os autores alertam para a necessidade de novos estudos com o intuito de esclarecer os possíveis efeitos deste tratamento sobre os tecidos.

O clareamento dental tornou-se cada vez mais popular à medida que novas tecnologias surgiram facilitando o procedimento. Embora cada vez mais novos produtos e técnicas tenham sido divulgados, Machado & Frasca⁵⁶ (1994) relembram que o prognóstico do tratamento clareador é diretamente proporcional ao fator etiológico do manchamento. O manchamento dental pode ser resultado de fluorose, ingestão de tetraciclina, trauma ou escurecimento pelo envelhecimento. Para as manchas castanhas de fluorose, manchamento discreto por tetraciclina ou escurecimento devido ao envelhecimento o prognóstico é mais favorável. Segundo os autores, as técnicas mais usadas para o clareamento de dentes com vitalidade pulpar são o clareamento caseiro e de consultório, que empregam tanto o peróxido de hidrogênio como o peróxido de carbamida, substâncias de baixo peso molecular e capazes de penetrar através do esmalte e para o interior dos túbulos dentinários, agindo também na dentina mais profunda.

Avaliando a situação clínica atual do clareamento de dentes com vitalidade pulpar, Hirata et al.⁴⁷ (1997) relembram que a técnica de clareamento dentário é conhecida pela humanidade desde o Egito antigo onde se misturavam abrasivos ao vinagre para clarear os dentes. Outros produtos como o ácido oxálico, ácido clorídrico isolado ou associado ao éter foram utilizados posteriormente. Atualmente, emprega-se o peróxido de hidrogênio e de carbamida para o tratamento clareador, principalmente na forma de gel, que oferece melhor controle clínico quando comparado às soluções. O mecanismo de ação dos agentes clareadores é baseado

no processo de oxi-redução resultante de uma pré-reação altamente ativa e rápida, chamada de pré-reação peridroxil. Durante este processo existe a formação de íons reativos que promovem a oxidação das manchas. As macromoléculas das manchas dentárias são oxidadas, com uma posterior quebra em estruturas menores e difusão em direção à superfície, o que proporciona o clareamento. Quando o platô máximo de clareamento é atingido, não existe continuidade na modificação de cor, fazendo com que o uso insistente de produtos clareadores resume-se apenas às perdas minerais e agressões periodontais.

Feinman²⁷ (1999) ressalta que o clareamento pode ser empregado isoladamente ou associado a outras terapias, sendo freqüentemente indicado antes que se inicie o tratamento restaurador. O uso de peróxido de hidrogênio, tanto em casa como no consultório, tem se mostrado extremamente eficaz. Segundo o autor, existem controvérsias na literatura a respeito da segurança dos agentes clareadores pelos efeitos adversos, tanto em tecidos duros como em tecidos moles, sendo que muitas vezes os resultados observados não representam a situação clínica real. O autor afirma que o clareamento caseiro é um método válido para o tratamento da maioria dos pacientes que anseiam por dentes mais claros, porque além de apresentar resultados favoráveis, seus efeitos adversos são mínimos.

Segundo Papathanasiou et al.⁶⁸ (2001) o clareamento dental é um tratamento conservador, simples e de baixo custo para a mudança de coloração dos dentes. Como resultado, o clareamento dental tem sido o mais popular tratamento estético na Odontologia. As técnicas de clareamento mais aceitáveis incluem técnica de consultório, clareamento caseiro ou a combinação de ambas. O clareamento de consultório geralmente utiliza como agente clareador o peróxido de hidrogênio 35%. As vantagens deste procedimento são não requerer a colaboração do paciente e seus resultados podem ser vistos imediatamente. As desvantagens são o maior tempo de trabalho e custo maior para o

paciente devido a necessidade de várias sessões de tratamento. Além disso, é muito comum, particularmente na técnica de consultório, a sensibilidade dental associada com o clareamento em dentes com vitalidade pulpar. Entretanto estudos clínicos mostram que alterações pulpares causadas pelo clareamento são reversíveis e desaparecem em pouco tempo.

Gerlach & Zhou³² (2001) relatam que os sistemas de clareamento para dentes com vitalidade pulpar podem ser classificados em três categorias: tratamento realizado em consultório, tratamento caseiro ou ainda tratamentos com produtos de consumo direto do paciente. Os sistemas clareadores mais utilizados em consultório são peróxido de carbamida 35% e peróxido de hidrogênio 30-35%. A composição química é similar, sendo que o peróxido de carbamida, em concentrações altas, contém cerca de 33% de peróxido de hidrogênio e se degrada em uréia e peróxido de hidrogênio na presença de água.

Araújo et al.⁴ (2005) relatam que os agentes clareadores empregados na técnica de clareamento de consultório são peróxido de hidrogênio de 35-38% (Superoxol[®] ou Peridrol, Opalescence XtraBoost[®]) e peróxido de carbamida a 35-37%. A técnica de clareamento de consultório possui como vantagens: controle do processo de clareamento, maior rapidez de resultado em relação à técnica de clareamento caseiro e possibilidade de clarear apenas alguns dentes. Entretanto, apresenta algumas desvantagens, como maior tempo operatório e clínico, alto custo e sensibilidade devido à utilização de agentes clareadores com alta concentração.

2.2 Permeabilidade das estruturas dentárias

A permeabilidade das estruturas dentárias aos materiais empregados no clareamento dental passou a ser investigada após a introdução do clareamento de dentes com vitalidade pulpar. Numa época em que diversas soluções eram utilizadas com o objetivo de eliminar manchamentos das estruturas dentárias, Griffin Junior et al.³⁹ (1977) desenvolveram um método para avaliar a penetração de peróxido de hidrogênio, ácido clorídrico, e solução de McInnes (cinco partes de peróxido de hidrogênio 30%, cinco partes de ácido clorídrico 16% e uma parte de éter etílico) através do esmalte e dentina para o interior da câmara pulpar. Em uma segunda etapa, os autores avaliaram o efeito destes tratamentos sobre a permeabilidade dentária. Para isso, quarenta dentes humanos extraídos foram divididos em quatro grupos, tratados da seguinte maneira: a) peróxido de hidrogênio 30%; b) ácido clorídrico 16%; c) solução de McInnes (cinco partes de peróxido de hidrogênio 30%, cinco partes de ácido clorídrico 16% e uma parte de éter etílico); d) solução salina fisiológica. Os dentes tiveram suas raízes seccionadas e o tecido pulpar eliminado. A face vestibular da coroa permaneceu exposta enquanto as demais partes foram isoladas com cera pegajosa. O interior da câmara foi preenchido com solução salina fisiológica, permanecendo a face vestibular exposta aos agentes de tratamento durante cinco minutos. A penetração das substâncias testadas através do esmalte e dentina para o interior da câmara pulpar foi determinada através do marcador radioativo fosfato, incorporado às soluções testadas. A solução foi removida do interior da câmara pulpar e adicionada a uma mistura de cintilação, que permitiu quantificar o fosfato que penetrou para o interior da câmara pulpar. Após a quantificação do agente radioativo presente no interior da câmara, os dentes foram submetidos a um segundo teste, para determinar se os tratamentos executados alteraram a permeabilidade

dentária. Para isso, os dentes foram lavados durante vinte minutos para eliminar qualquer resíduo de fosfato, sendo em seguida imersos em solução salina contendo iodo durante um período de 24 horas. Os resultados encontrados mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à penetração de fosfato. Os autores concluíram que nenhuma das soluções testadas foi capaz de atravessar o esmalte e a dentina e que, tanto o ácido clorídrico como a solução de McInnes desmineralizaram a superfície do esmalte, mas não foi suficiente para provocar aumento na permeabilidade dentária.

A penetração de agentes clareadores para o interior da câmara pulpar, à medida que novas modificações foram introduzidas na técnica de clareamento dental, passou a ser investigada. Bowles & Ugwuneri¹⁶ (1987), quantificaram o peróxido de hidrogênio que penetra para o interior da câmara pulpar a partir de soluções clareadoras de diferentes concentrações. Utilizaram dentes humanos anteriores, cujas raízes foram seccionadas e o tecido pulpar coronário foi eliminado para que a câmara pulpar pudesse ser preenchida com tampão acetato. Em seguida, os dentes foram expostos a soluções de peróxido de hidrogênio 1%, 10% e 30% durante quinze minutos a 37° C, sendo o grupo controle exposto à água destilada. Paralelamente, dois outros grupos foram expostos ao peróxido de hidrogênio 10%, um deles a 37° C e outro a 50° C, para testar a influência do calor na penetração do agente. Após o tempo de exposição determinado, a solução tampão foi removida do interior da câmara pulpar para reagir em um tubo de ensaio com peroxidase e corante violeta leucocristal. Os valores de densidade óptica das soluções foram mensurados em espectrofotômetro, sob um comprimento de onda de 596nm, e posteriormente comparados a uma curva padrão de peróxido de hidrogênio, levantada a partir de concentrações conhecidas de peróxido correspondentes a valores específicos de absorbância. Os maiores valores de penetração puderam ser observados em amostras tratadas com peróxido de hidrogênio 30% ($25,4 \pm 8,5 \mu\text{g}$), seguidos do

peróxido de hidrogênio 10% ($5,8 \pm 2,6 \mu\text{g}$) e peróxido de hidrogênio 1% ($1,8 \pm 1,7 \mu\text{g}$). Nas amostras tratadas com peróxido de hidrogênio 10% e calor ($25,5 \pm 9,3 \mu\text{g}$), a quantidade de peróxido encontrada no interior da câmara foi equivalente àquela observada nas amostras tratadas com peróxido de hidrogênio 30%. Os autores concluíram que a penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar é estatisticamente significativa, estando principalmente relacionada à concentração da solução aplicada e à temperatura de aplicação.

Em 1991, Vongsavan & Matthews⁹³ verificaram a difusão de corantes através da dentina de dentes de gatos, que tiveram a cúspide de seus dentes caninos fraturada para expor a dentina. Sobre a dentina exposta foi acoplado um capilar contendo a solução corante de Ringer. A movimentação de fluidos através da dentina foi monitorada com microscópio e luz. Foi observado também o fluxo do interior para a superfície externa do dente em todos os dentes avaliados. A condutibilidade hidráulica da dentina foi estimada pela mensuração do fluxo quando a extremidade aberta do tubo capilar se modificava. A pressão necessária para interromper o fluxo para o interior da câmara pulpar variou de 0,4 a 26,9cm. Quando a polpa foi seccionada, o fluxo reverteu em dez dos 12 dentes avaliados. Os autores concluíram que a condutibilidade hidráulica da dentina aumentou significativamente após a remoção do tecido pulpar e que existe um fluxo do interior para a superfície externa de túbulos dentinários expostos, que pode impedir a difusão de substâncias da cavidade bucal para o interior da câmara pulpar.

Quando géis à base de peróxido de carbamida foram introduzidos para o clareamento de dentes com vitalidade pulpar, Cooper et al.²⁰ (1992) avaliaram a quantidade deste produto que penetra para o interior da câmara pulpar quando comparado ao peróxido de hidrogênio. Uma vez que o peróxido de carbamida se decompõe em peróxido de hidrogênio, foi possível quantificar o peróxido de hidrogênio liberado a

partir do peróxido de carbamida empregando a mesma metodologia utilizada por Bowles & Ugwuneri¹⁶ (1987). Neste estudo, foram utilizados dentes anteriores humanos que tiveram suas raízes seccionadas e o tecido pulpar coronário extirpado. A câmara pulpar foi preenchida com tampão acetato e o dente foi submetido ao clareamento com gel de peróxido de carbamida (10% ou 15%) ou gel de peróxido de hidrogênio (5% ou 30%). Toda a coroa permaneceu exposta ao agente clareador a 37°C durante 15 minutos. A solução tampão foi removida do interior da câmara para reagir em um tubo de ensaio com peroxidase e corante violeta leucocrystal, sendo as densidades ópticas das soluções registradas em espectrofotômetro calibrado a 596nm. Posteriormente, estes dados foram convertidos em microgramas de peróxido de hidrogênio a partir de uma curva padrão estabelecida previamente, a partir de quantidades conhecidas de peróxido de hidrogênio. Os resultados obtidos foram estatisticamente significantes sendo, respectivamente: peróxido de carbamida 10% - $3,3 \pm 0,38 \mu\text{g}$; peróxido de carbamida 15% - $4,8 \pm 0,27 \mu\text{g}$; peróxido de hidrogênio 5% - $10,4 \pm 0,24 \mu\text{g}$; peróxido de hidrogênio 30% - $40,4 \pm 3,51 \mu\text{g}$. Os autores concluíram que ocorre menor penetração para o interior da câmara pulpar a partir do peróxido de carbamida quando comparado ao peróxido de hidrogênio livre.

Haywood⁴² (1997), tecendo considerações sobre o clareamento de dentes com vitalidade pulpar, relatou trabalhos mostrando que uma pequena quantidade de peróxido de carbamida 10% alcançou o interior da câmara pulpar em 15 minutos de exposição ao produto. Segundo o autor, os produtos resultantes da decomposição do peróxido de carbamida (peróxido de hidrogênio e uréia) atravessam facilmente o esmalte e dentina devido à permeabilidade destes substratos. Dessa forma, o clareamento dental é capaz de, além de eliminar manchas intrínsecas e extrínsecas, promover o clareamento das próprias estruturas dentárias. O autor ressalta que o peróxido de hidrogênio 35% chega à polpa mais rapidamente, sendo que em 15 minutos de exposição há

penetração 12 vezes superior à quantia de peróxido obtida a partir do peróxido de carbamida 10%. Mesmo registrando tamanha agressão, o autor relembra que não há dano pulpar irreversível.

No intuito de investigar o comportamento de três produtos contendo o mesmo ingrediente ativo e a mesma concentração, porém de marcas comerciais diferentes, Thitinthapan et al.⁸⁸ (1999) avaliaram a quantidade de peróxido de hidrogênio que atinge a câmara pulpar. Utilizaram premolares extraídos por razões ortodônticas, que tiveram suas raízes seccionadas e o tecido pulpar coronário eliminado. Os dentes foram divididos em grupos e tratados respectivamente com Opalescence, Sparkle e Rembrandt Lighten, produtos a base de peróxido de carbamida 10%. O interior da câmara pulpar foi preenchido com tampão acetato e a coroa foi exposta ao gel clareador durante 25 minutos a 37°C, sendo o grupo controle imerso em água destilada. O tampão acetato foi, então, removido do interior da câmara e transferido a um tubo de ensaio onde reagiu com corante violeta leucocristal e peroxidase. A densidade óptica das soluções foi mensurada em espectrofotômetro e convertida em microgramas de peróxido de hidrogênio a partir de uma curva padrão. Observou-se que o peróxido de carbamida difundiu-se para o interior da câmara pulpar, sendo a maior penetração registrada para o Opalescence ($3,605 \pm 1,405 \mu\text{g}$), seguida do Sparkle ($1,28 \pm 0,762 \mu\text{g}$) e Rembrandt ($0,339 \pm 0,251 \mu\text{g}$), resultados estatisticamente diferentes entre si. Os autores concluíram que o peróxido de hidrogênio resultante da decomposição do peróxido de carbamida alcança a câmara pulpar em quantidades diferentes mesmo em produtos de mesma concentração, possivelmente porque outros componentes adicionados ao agente clareador possam interferir na penetração do produto através da estrutura dentária. Os resultados mostram que quanto mais viscoso o gel, devido à presença de carbopol, maior a penetração de peróxido para o interior da polpa pelo maior contato do produto com a superfície dentária.

Recentes estudos relatam que os agentes clareadores também são capazes de penetrar no interior da câmara pulpar de dentes restaurados. Gokay et al.³⁴, em 2000, propuseram um estudo *in vitro* para avaliar o efeito do peróxido de carbamida sobre dentes restaurados com resina composta. Para isso foram extraídos 49 dentes anteriores humanos livres de cárie, divididos em sete grupos. Vinte e oito dentes (Grupos I-IV) foram mantidos intactos e 28 dentes (Grupos V-VII) foram restaurados com resina composta híbrida (XR Herculite, Kerr). Todos os dentes foram submetidos a termociclagem e seccionados 3mm apical à junção amelo-cementária. No interior da câmara pulpar foi colocado um tampão acetato e a coroa foi exposta ao gel clareador durante 30 minutos a 37°C. Nos dentes dos grupos II e V foi aplicado o peróxido de carbamida 10%; nos dentes dos grupos III e VI o peróxido de carbamida 15%; nos dentes dos grupos IV e VII o peróxido de carbamida 35%, e o grupo I foi imerso em água destilada, servindo como controle. O tampão acetato foi, então, removido do interior da câmara e transferido a um tubo de ensaio onde reagiu com corante violeta leucocristal e peroxidase. A densidade óptica das soluções foi mensurada em espectrofotômetro e convertida em microgramas de peróxido de hidrogênio a partir de uma curva padrão. De acordo com os resultados, verificou-se que houve penetração significativamente menor de peróxido nos grupos II e III ($3,31 \pm 0,34 \mu\text{g}$; $4,74 \pm 0,43 \mu\text{g}$) que nos grupos VI e VII ($7,17 \pm 0,38 \mu\text{g}$; $8,31 \pm 0,64 \mu\text{g}$). Concluíram que ocorreu uma maior penetração do agente clareador para o interior da câmara pulpar de dentes restaurados. Por outro lado, não é claro qual a concentração do peróxido de hidrogênio que causaria danos irreversíveis ao tecido pulpar. Supõe-se que a profundidade, o tamanho da restauração e o tempo de exposição ao agente clareador possam afetar a taxa de penetração do agente clareador para o interior da câmara pulpar.

Ainda em 2000, Gokay et al.³⁵ realizaram outro estudo para avaliar a difusão do peróxido para o interior da câmara pulpar de dentes

restaurados, desta vez utilizando vários materiais restauradores. Sessenta e cinco dentes humanos foram divididos em 13 grupos contendo cinco espécimes cada. Grupos I, IV, VII e X – os espécimes foram restaurados com resina composta (Charisma, Heraeus Kulzer); Grupos II, V, VIII e XI – os espécimes foram restaurados com compômero (Dyract, Dentsply) e Grupos III, VI, IX e XII – os espécimes foram restaurados com cimento ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer, 3M). Cinco dentes foram mantidos hígidos e serviram como grupo controle. Os dentes foram submetidos a termociclagem com temperaturas entre 5°C e 55°C por 100 ciclos e seccionados 3mm apical à junção amelo-cementária. No interior da câmara pulpar foi colocado um tampão acetato e a coroa foi exposta ao gel clareador durante 30 minutos a 37°C. Os dentes dos grupos I, II e III foram imersos em uma solução de peróxido de hidrogênio 30%; nos dentes dos grupos IV, V e VI foi aplicado o peróxido de carbamida 10%; nos dentes dos grupos VII, VIII e IX foi aplicado o peróxido de carbamida 15%; nos dentes dos grupos X, XI e XII foi aplicado o peróxido de carbamida 35%, e o grupo controle foi imerso em água destilada. Observou-se que a penetração do peróxido para o interior da câmara pulpar foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do peróxido dos diferentes agentes clareadores. A maior penetração de peróxido ocorreu nos dentes restaurados com cimento ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer), enquanto que os dentes restaurados com resina composta mostraram a menor penetração de peróxido para o interior da câmara pulpar. Concluíram que a quantidade de penetração de peróxido de hidrogênio depende mais da concentração do agente clareador do que do tempo em que o agente fica em contato com as estruturas dentais.

Em 2004, Benetti et al.¹¹, investigaram a penetração do peróxido de carbamida no interior da câmara pulpar de incisivos laterais bovinos, restaurados (G4, G5 e G6) ou não (G1, G2 e G3), e submetidos a três tipos de tratamento: G1 e G4- imersão em água deionizada; G2 e G5-

aplicação de peróxido de carbamida 10%; G3 e G6- aplicação de peróxido de carbamida 35%. A câmara pulpar foi preenchida com solução de tampão de acetato, sendo em seguida, a coroa exposta aos agentes clareadores durante 60 minutos. Os resultados mostraram que o procedimento restaurador aumentou a penetração dos agentes clareadores para o interior da câmara pulpar, sendo esta penetração concentração-dependente. Concluíram que embora ainda sejam necessárias mais investigações sobre a penetração de agentes clareadores para o interior da câmara pulpar *in vivo*, os resultados deste estudo sugerem que os agentes clareadores em baixas concentrações podem ser usados com segurança em dentes restaurados.

Joiner & Thakker⁴⁹ (2004) realizaram um estudo *in vitro* para determinar a quantidade de peróxido de hidrogênio encontrada no interior da câmara pulpar de dentes tratados com Xtra White (peróxido de hidrogênio 6%). Foram utilizados caninos e incisivos humanos hígidos que tiveram as câmaras pulpares preenchidas com solução tampão de acetato, sendo em seguida, a coroa exposta ao agente clareador ou à água durante 20 minutos. Os resultados mostraram que baixos níveis (0,37µg) de peróxido de hidrogênio foram encontrados no interior da câmara pulpar de dentes tratados com Xtra White (peróxido de hidrogênio 6%) depois de 20 minutos de tratamento. Deste modo, a quantidade de peróxido encontrada no interior da câmara pulpar de dentes expostos ao Xtra White é infinitamente menor que o necessário para causar inativação de enzimas pulpares. Além disso, a penetração do peróxido para dentro da câmara pulpar *in vitro* não acontece como na cavidade bucal, onde há degradação do peróxido por peroxidases. Os autores concluem que o agente clareador testado no estudo pode ser usado com segurança em dentes hígidos, pois não é prejudicial ao tecido pulpar.

Pretti et al.⁷² (2004) estudaram, *in vitro*, a penetração do peróxido de hidrogênio 35% (Whiteness HP) e peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Xtra Boost) para o interior da câmara pulpar de dentes

bovinos submetidos ao clareamento externo. Concluíram que no clareamento externo com peróxido de hidrogênio em concentrações iguais ou superiores a 35%, ocorre penetração do peróxido para o interior da câmara pulpar.

Recentemente, foi introduzida uma nova técnica de clareamento que usa tiras flexíveis aplicadas diretamente sobre os dentes. Estas tiras contêm várias concentrações de peróxido de hidrogênio (5,3%, 6,5% e 14%) e eliminam a confecção e utilização de moldeiras. Considerando que não há relatos na literatura, Gokay et al.³³ (2004) avaliaram *in vitro* a possível penetração de dois agentes clareadores (peróxido de hidrogênio 6,5% e 14%), contidos nestas tiras, para o interior da câmara pulpar. Vinte e quatro incisivos centrais superiores humanos foram divididos em três grupos. Todos os dentes foram seccionados 3mm apical à junção amelo-cementária, o tecido pulpar foi removido e a câmara pulpar foi preenchida com uma solução tampão de acetato. Nas superfícies vestibulares das coroas foi acoplada a tira contendo o agente clareador por 30 minutos; os dentes do grupo controle foram expostos apenas à água destilada. Os resultados indicaram que o agente clareador contendo 14% de peróxido de hidrogênio penetrou mais que o peróxido de hidrogênio 6,5%. Os autores concluíram que concentrações mais altas de peróxido de hidrogênio são capazes de penetrar mais para o interior da câmara pulpar que concentrações mais baixas deste agente. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar o comportamento clínico e outras propriedades das tiras de clareamento.

2.3 Efeitos dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários

No clareamento de dentes com vitalidade pulpar uma das grandes preocupações refere-se à penetração de peróxidos para o interior do esmalte e dentina, atingindo a câmara pulpar, entretanto, os efeitos desta passagem do peróxido de hidrogênio ainda são contraditórios. Enquanto alguns autores consideram a utilização de agentes clareadores um procedimento seguro (YURDUKORU et al.⁹⁸, 2003), outros acreditam que o peróxido de hidrogênio possa provocar irritação no tecido pulpar (LI⁵⁵, 1998) ou alteração na estrutura dentária (SPALDING et al.⁸³, 2003).

2.3.1 Efeito sobre esmalte, dentina e cimento

Os efeitos colaterais que os agentes clareadores causam sobre as estruturas dentárias têm sido bastante discutidos, uma vez que alguns agentes clareadores são capazes de provocar mudanças estruturais e morfológicas nos tecidos duros dentários.

Com o intuito de verificar as interações da uréia com o esmalte e a dentina Wainwright & Lemoine⁹⁴ (1950) verificaram a possível penetração desta substância no interior dos tecidos dentários. A uréia é altamente difusível, possui um pequeno peso molecular, é bacteriostática e é uma enzima capaz de inibir algumas substâncias. As propriedades físicas e químicas da uréia fazem com que ela possa penetrar nos tecidos dentários. Para o estudo foram utilizados dentes humanos com esmalte íntegro ou cariado. Foi realizado o preparo de uma solução de uréia radioativa (0,02ml) a qual foi espalhada com auxílio de uma micropipeta sobre a superfície vestibular dos dentes e mantida por 5 minutos. Verificou-se que a penetração da uréia radioativa ocorreu em todos os

espécimes, íntegros ou cariados. Um tipo de penetração difusa ocorreu através do esmalte intacto, bem como através de fendas, erosões e lesões cariosas. A penetração seguiu um padrão radial de acordo com a disposição dos cristais do esmalte. A uréia radioativa penetrou irregularmente, embora livremente, na junção amelo-cementária. Na dentina, observou-se que a penetração, em dentes íntegros, ocorreu nas primeiras 24 horas após a aplicação da uréia. Os autores concluem que a uréia foi capaz de se difundir através do esmalte e dentina, entretanto não foram observadas mudanças morfológicas nestes tecidos.

Arends et al.⁵ (1984) analisaram a morfologia superficial do esmalte humano após o tratamento com uréia. Para isso, utilizaram molares humanos divididos em dois grupos: armazenados em água ou imerso em solução de uréia 0,1M por períodos de três dias a três meses. Na microscopia eletrônica de varredura observou-se que a solução de uréia agrediu o esmalte íntegro e provocou a formação de crateras neste substrato após três a sete dias de imersão. Os autores sugerem que a uréia destrói ou enfraquece parte da estrutura peptídica, especialmente interprismática, alterando a união nas pontes de hidrogênio das proteínas e, desta forma, modificando a ligação entre a matriz do esmalte e os componentes minerais.

Ruse et al.⁷⁹ (1990) realizaram um estudo para verificar se as mudanças ocorridas na superfície do esmalte pelo tratamento com o peróxido de hidrogênio poderiam afetar na adesividade do esmalte a resina composta. Para o estudo foram utilizados sete incisivos laterais bovinos. Na superfície vestibular dos dentes foram realizadas quatro secções. Dois dentes sofreram polimento lavagem e secagem do esmalte; dois dentes foram apenas lavados e secos e os outros três dentes sofreram profilaxia com baixa rotação. As superfícies vestibulares foram expostas a quatro diferentes tipos de tratamentos: a) aplicação de peróxido de hidrogênio 35% por 60 min; b) aplicação de ácido fosfórico 37% por 60s; c) aplicação de peróxido de hidrogênio 35% por 60 min,

água destilada por 2min e ácido fosfórico 37% por 60s; d) ácido fosfórico 37% por 60s, água destilada por 2min e peróxido de hidrogênio 35% por 60 min. Os dentes foram analisados em espectrofotômetro. As análises indicam que a exposição ao peróxido de hidrogênio 35% sozinho, junto ao aumento do conteúdo de nitrogênio, não produz significativa mudança na composição do esmalte de nenhuma das superfícies investigadas. A exposição ao ácido fosfórico, no entanto, produziu um decréscimo na concentração de cálcio e fósforo e um aumento na concentração de carbono e nitrogênio. Estes resultados sugerem que embora o peróxido de hidrogênio não tenha promovido modificações significativas na composição estrutural do esmalte, isso não significa que não tenham existido modificações químicas superficiais. Portanto, os autores relatam que ainda há necessidade da realização de mais estudos para analisar a superfície do esmalte após tratamento clareador.

Em 1993, Hanks et al.⁴⁰, avaliaram a citotoxicidade do peróxido de hidrogênio sobre cultura de células, a difusão do peróxido através da dentina e o risco do peróxido induzir citotoxicidade na dentina exposta aos agentes clareadores. Três séries de experimentos foram realizados: a) mensuração da resposta celular da succinil desidrogenase a várias concentrações do peróxido de hidrogênio no período de 1 e 6 horas; b) utilização do agente clareador em um dispositivo que simulava a câmara pulpar *in vitro* para determinar a quantidade de peróxido de hidrogênio que se difundia através de 0,5mm de dentina e c) mensuração da resposta celular após a difusão do agente clareador através da dentina. No primeiro experimento pode-se verificar que a citotoxicidade do peróxido de hidrogênio sobre cultura de células aumentou proporcionalmente a sua concentração e pelo período de tempo, sendo que no período de 6 horas houve maior citotoxicidade. No segundo experimento observou-se que penetrou quantidades significantes de peróxido de hidrogênio através da dentina em um período de tempo menor que 15 minutos. O terceiro experimento sugere que no período de 15 minutos os agentes

clareadores usados na pesquisa são capazes de causar danos ao tecido pulpar levando a uma possível resposta inflamatória. Os autores concluem que antes da aplicação do agente clareador sobre dentes com vitalidade pulpar é importante verificar alguns fatores como espessura da dentina e se existem áreas de dentina exposta.

Uma vez que os agentes clareadores podem causar alterações na estrutura química da dentina e cemento humanos, Rotstein et al.⁷⁷ (1996) realizaram um estudo *in vitro* com 21 premolares humanos para avaliar estas alterações. Os dentes foram cortados longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual e divididos em seis grupos experimentais tratados com os seguintes materiais: solução aquosa de peróxido de hidrogênio 30%; solução aquosa de peróxido de carbamida 10%; pasta de perborato de sódio e água e três géis clareadores caseiros (Nu-Smile, Opalescence e DentalBright). Seis espécimes adicionais foram tratados com solução salina e serviram como grupo controle. O tratamento dos grupos experimentais consistiu em imersão dos espécimes nos respectivos materiais de teste durante sete dias. Os espécimes foram preparados para análise histoquímica, em microscópio eletrônico de varredura e espectrômetro de energia dispersiva. Os resultados do estudo indicam que a maioria dos agentes clareadores estudados causou mudanças nos níveis de cálcio, fósforo, sulfato e potássio nos tecidos. No esmalte ocorreu uma redução significativa nos níveis de cálcio com o tratamento do peróxido de hidrogênio 30%, em contrapartida houve um significativo aumento dos níveis de cálcio depois do tratamento com o peróxido de carbamida 10%. Na dentina, foi verificado uma redução significativa dos níveis de cálcio com o tratamento do peróxido de hidrogênio 30%, do peróxido de carbamida 10% e de dois agentes clareadores disponíveis comercialmente, Opalescence e DentalBright. No cemento, houve uma significativa redução nos níveis de cálcio depois do tratamento com peróxido de hidrogênio 30%, Nu-Smile e Opalescence. Em geral, as taxas de cálcio e fósforo diminuíram mais no cemento e na

dentina do que no esmalte, provavelmente devido as diferenças nos componentes orgânicos e inorgânicos destes tecidos. O peróxido de hidrogênio 30% foi o único agente que diminuiu significativamente a taxa de cálcio e fósforo dos tecidos dentários. Os autores concluíram que os agentes clareadores podem causar danos aos tecidos dentários, e portanto devem ser usados com cautela.

Bitter¹² (1998) realizou um estudo *in vivo* com o propósito de avaliar os efeitos dos agentes clareadores sobre a superfície do esmalte após o clareamento. Foram selecionados três pacientes que possuíam dentes condenados à extração por cárie ou problemas periodontais, sendo escolhidos catorze dentes. Os pacientes foram moldados e foi confeccionada uma moldeira de acetato para a realização do tratamento clareador que consistiu na utilização desta toda a noite por um período de trinta minutos. Após um período de 14 dias, dois dentes de cada paciente foram extraídos e preparados para avaliação em microscópio eletrônico de varredura. Novas extrações foram realizadas em 21, trinta e noventa dias após o término do tratamento clareador. O grupo controle, onde não foi aplicado o agente clareador, demonstrou uniformidade na camada superficial aprismática e indicação de desgaste fisiológico devido à exposição bucal. Depois de 14 dias da exposição ao agente clareador pode-se observar uma remoção parcial da camada aprismática e início da exposição de prismas de esmalte. Em 21 dias, a exposição e desmineralização dos prismas de esmalte são evidentes. Depois de trinta dias de exposição ao agente clareador, permaneceu a perda da camada aprismática e ocorreu severa exposição dos prismas do esmalte, mostrando severidade aumentada após noventa dias do término do clareamento. Esse estudo concluiu que o efeito do clareamento no esmalte pode levar ao longo do tempo aumento de desgaste do esmalte ou fratura de cúspides, principalmente em dentes restaurados. Os autores reforçam a necessidade de informar aos pacientes as alterações no

esmalte e efeitos prejudiciais sobre a estrutura dental como consequência do uso prolongado dos agentes clareadores.

Com o objetivo de avaliar o efeito de dois agentes clareadores contendo peróxido de hidrogênio, Opalescence e Nite White e uma solução de peróxido de hidrogênio 30% sobre a superfície do esmalte utilizando um microscópio de força atômica, Hegedüs et al.⁴⁵ (1999) realizaram um estudo *in vitro*. Quinze incisivos humanos não-cariados foram extraídos por razões periodontais, e divididos em três grupos contendo cinco espécimes em cada grupo. Os grupos I, II e III foram tratados com Opalescence (peróxido de carbamida 10%), Nite White (peróxido de carbamida 10%) e uma solução de peróxido de hidrogênio 30%, respectivamente. A metade lingual e as raízes dos dentes foram seccionados, sendo que apenas a metade vestibular foi utilizada no estudo. A superfície vestibular de cada espécime foi avaliada pelo microscópio de força atômica antes e após o tratamento clareador. Os espécimes tratados com Opalescence (peróxido de carbamida 10%) e Nite White (peróxido de carbamida 10%) receberam sete aplicações de 4 horas cada, totalizando 28h de tratamento clareador. Os espécimes do grupo III ficaram imersos durante sete períodos de 4 h na solução de peróxido de hidrogênio 30%, sendo esta solução trocada a cada tratamento. Depois deste período de 28 h, os espécimes foram analisados no microscópio de força atômica. Nos espécimes tratados com Nite White e com Opalescence as depressões foram mais proeminentes e a superfície apresentou-se mais irregular que os grupos não tratados. A morfologia do esmalte após o tratamento com o peróxido de hidrogênio 30% apresentou-se com depressões e ranhuras mais evidentes que em todos os grupos. Os autores concluíram que agentes clareadores são capazes de causar alterações não somente na superfície, mas também no interior do esmalte. Estas alterações ocorrem devido ao baixo peso molecular do peróxido de hidrogênio que pode penetrar dentro do esmalte afetando a fase orgânica do esmalte.

Em 1999, Novais & Toledo⁶⁴ preocupados com o uso indiscriminado dos agentes clareadores realizaram um estudo objetivando avaliar os efeitos destes agentes sobre a estrutura dental, em especial no esmalte humano. Foram utilizados vinte e dois premolares extraídos por razões ortodônticas, sendo dois dentes usados como controle. Realizou-se clareamento caseiro utilizando o peróxido de carbamida 10% com dois períodos de avaliação: a) 21 períodos de 12 h em contato com o material clareador durante três semanas; b) seis semanas de tratamento, perfazendo um total de 42 períodos de 12 h. Após o tratamento, os dentes de ambos os grupos foram cortados ao meio, no sentido vestibulo-lingual, e analisados em microscopia de luz polarizada. O corte dos espécimes utilizados como controle exibiram aspectos semelhantes aos que foram submetidos ao tratamento durante três semanas. Os cortes correspondentes ao período de tratamento de seis semanas exibiram aspectos atípicos na morfologia e coloração. Os autores concluíram que nas condições experimentais do trabalho, o esmalte dentário, sob ação do peróxido de carbamida 10% após seis semanas de tratamento, exibiu aspectos morfológicos atípicos e sugestivos de alterações estruturais.

Spalding et al.⁸³ (2003) propuseram avaliar, em microscópio eletrônico de varredura, a morfologia da superfície do esmalte após o uso do peróxido de hidrogênio 35% associado ou não ao peróxido de carbamida 10%, bem como o efeito da saliva sobre o dente que foi submetido ao tratamento clareador. Para o estudo foram utilizados doze dentes, sendo seis premolares erupcionados e seis terceiros molares não-erupcionados extraídos por razões ortodônticas ou preventivas. Os dentes foram seccionados no sentido vestibulo-lingual e méso-distal obtendo-se quatro fragmentos de cada coroa. Três fragmentos de cada dente recebeu tratamento clareador seguindo os protocolos 1, 2 e 3, e o quarto fragmento de cada grupo foi usado como controle. No protocolo experimental 1, os espécimes foram tratados com peróxido de hidrogênio 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) durante 20 minutos. No protocolo

experimental 2, os espécimes foram tratados com peróxido de hidrogênio 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) por 20 minutos e depois imersos em saliva por uma semana. No protocolo experimental 3, os espécimes foram tratados uma vez com peróxido de hidrogênio 35% (Opalescence Xtra, Ultradent) e depois tratados com peróxido de carbamida por uma semana (12h com peróxido de carbamida alternando com 12h em saliva). A avaliação por microscopia eletrônica de varredura revelou que houve variação na morfologia da superfície do dente de acordo com os diferentes protocolos utilizados. Os espécimes do grupo controle mostraram que o padrão da superfície do esmalte é diferente em dentes erupcionados e não-erupcionados. O peróxido de hidrogênio 35% promoveu aumento na rugosidade de superfície nos espécimes tratados de acordo com o protocolo 1. A morfologia padrão dos espécimes tratados com o protocolo 2 foi marcada pela presença de partículas e glóbulos esféricos incorporados na estrutura mineralizada do esmalte. Uma superfície lisa e brilhante foi observado nos espécimes tratados pelo protocolo 3. Apesar das mudanças observadas na superfície do esmalte após o clareamento e considerando as características morfológicas da superfície dentária, o clareamento, como foi descrito no estudo, pode ser considerado um procedimento seguro ao esmalte.

Em 2003, Yurdukoru et al.⁹⁸ realizaram um estudo *in vivo* visando avaliar os efeitos da ativação por luz do agente clareador Opalescence Xtra (peróxido de hidrogênio 35%) sobre a superfície do esmalte de dentes humanos. As superfícies vestibulares de nove incisivos superiores pertencentes a diferentes pacientes foram divididas em quatro quadrantes, e o agente clareador foi aplicado na metade mesial dos dentes. Cada quadrante foi tratado com diferentes procedimentos como se segue: Quadrante 1- aplicação de Opalescence Xtra por 5 min e ácido fosfórico 37% por 30s durante três semanas; Quadrante 2- aplicação de Opalescence Xtra por 5 min durante três semanas; Quadrante 3- não houve aplicação de Opalescence Xtra durante três semanas (grupo

controle); Quadrante 4- aplicação de ácido fosfórico 37% por 30s durante três semanas. Os dentes foram extraídos e os espécimes levados para análise em microscópio eletrônico de varredura. Ainda que não tenham ocorrido diferenças estatísticas na morfologia da superfície do esmalte clareado e do grupo controle, os dentes tratados somente com ácido fosfórico 37% ou com ácido fosfórico + agente clareador demonstraram morfologias diferentes na superfície do esmalte. Os autores concluíram que a exposição do esmalte ao peróxido de hidrogênio 35% não foi capaz de danificar a superfície deste tecido dentário. Entretanto, mais estudos devem ser realizados com intuito de garantir uma aplicação segura do agente clareador sobre a superfície do esmalte por tempos mais longos.

Kawamoto & Tsujimoto⁵⁰ (2004) avaliaram os mecanismos pelos quais o peróxido de hidrogênio clareia os dentes e suas possíveis consequências aos tecidos duros dentários. Para isso, foram utilizadas quatro espécimes na forma de blocos obtidos de canais radiculares de dentes humanos. A quantidade de cálcio dissolvido dos blocos de dentes que ficaram imersos em água destilada ou em peróxido de hidrogênio foi mensurada utilizando um espectrofotômetro de emissão de plasma atômico verificando-se que a quantidade de cálcio decresceu quanto maior o tempo e a concentração do peróxido. Além disso, para avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio sobre o componente orgânico da dentina foi utilizado um raio-X de difração e observou-se que houve maior dissolução deste componente quanto maior a concentração do peróxido de hidrogênio e quanto maior o tempo de imersão neste produto. Os autores concluíram que a alta concentração do peróxido associada a aplicação por um tempo maior foi prejudicial ao componente orgânico da dentina e permitiu a dissolução de quantidades significantes de cálcio.

2.3.2 Efeito sobre o tecido pulpar

Em 1979, Cohen & Chase¹⁹ realizaram um estudo *in vivo* para determinar mudanças histopatológicas no tecido pulpar após a aplicação do Superoxol associado ao calor e determinar se essas mudanças eram transitórias ou permanentes. Cinquenta e um premolares humanos com indicação de exodontia foram isolados e receberam aplicações de peróxido de hidrogênio 35% e calor (55°C) na superfície vestibular e lingual por 30 minutos, em três sessões, sendo que um dente de cada paciente serviu como controle. Os dentes foram extraídos após 1h, três dias, 15 dias ou trinta dias e preparados para a análise histológica. Os resultados indicaram que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais e o controle. Apesar de não terem ocorrido mudanças histopatológicas significativas, a maioria dos pacientes relatou dor após o procedimento clareador. Esse desconforto pós-operatório pode ter sido causado por um aumento na pressão intrapulpar decorrente da aplicação do calor, entretanto cessou depois de uma hora do procedimento. Concluíram que a aplicação do peróxido de hidrogênio e calor em dentes com vitalidade pulpar pode ser considerado inofensivo à polpa.

Robertson & Melfi⁷⁵ (1980) avaliaram histologicamente a resposta pulpar de premolares humanos jovens após aplicação do peróxido de hidrogênio, associado ou não ao calor. Os vinte e oito premolares foram divididos em quatro grupos: Grupo 1- não houve nenhum tipo de tratamento, grupo controle; Grupo 2- dentes tratados com aplicação de calor (46 a 51°C) e peróxido de hidrogênio 35%, com intervalos de 5 minutos; Grupo 3- dentes tratados com aplicação de calor (46 a 51°C) e solução salina fisiológica, com intervalos de 5 minutos; Grupo 4- dentes tratados somente com peróxido de hidrogênio 35%, com intervalos de 5 minutos. Os tratamentos clareadores foram realizados em duas sessões, sendo a segunda sessão realizada quatro dias após a

primeira. Após quatro dias da realização da segunda sessão, os dentes foram extraídos e preparados para a análise histológica. Os resultados mostraram ausência de reação inflamatória nos grupos tratados com calor e solução salina fisiológica e no controle. Entretanto, houve uma resposta inflamatória superficial com presença de leucócitos e linfócitos nos dentes dos grupos onde foi aplicado o peróxido de hidrogênio, associado ou não ao calor. Essa resposta inflamatória foi de baixo grau, caracterizada como leve e por isso houve uma reparação completa do tecido pulpar. Os autores concluíram que a aplicação do peróxido de hidrogênio associado ou não ao calor não causou resposta inflamatória significativa comparada ao grupo controle.

A resposta pulpar foi avaliada ainda por Baumgartner et al.¹⁰ (1983) utilizando a técnica modificada de McInnes que consiste na associação do clareamento, desgaste e remoção química da mancha. Premolares de nove pacientes, foram tratados pela técnica modificada de McInnes ou da mesma maneira que os dentes do grupo experimental, entretanto substituindo o agente clareador por solução salina fisiológica (controle). A mistura clareadora era composta por 1ml de ácido clorídrico 36%, 1ml de peróxido de hidrogênio 30% e 0,2ml de éter etílico. Essa mistura foi aplicada por 3 vezes de 5 minutos seguida do desgaste superficial do esmalte por 15s, totalizando 15 minutos de aplicação do agente clareador e 45s de desgaste. Para a neutralização do agente clareador os dentes foram lavados com solução de hipoclorito de sódio 5,25% e extraídos após intervalos de 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 17 ou 19 dias do tratamento clareador. Na análise macroscópica observou-se que a técnica modificada de McInnes promoveu maior perda de esmalte quando comparado ao grupo controle. A avaliação histológica microscópica da polpa revelou pequena ou nenhuma resposta pulpar depois do tratamento clareador. Verificou-se uma reação inflamatória leve em algumas amostras dos grupos experimentais e controle que pode ser atribuída ao desgaste do esmalte ou aos procedimentos de extração dentária. Ainda

que a aplicação do mistura clareadora não cause significativa reação pulpar, ela é capaz de remover quantidades substanciais de esmalte o que poderia afetar, a longo prazo, o prognóstico da polpa. Portanto, é importante que o clínico seja cuidadoso na remoção de esmalte durante o tratamento clareador pela técnica modificada de McInnes.

Em busca de um tratamento clareador de consultório seguro e eficaz, Seale & Wilson⁸¹ (1985) propuseram a determinação de um método de clareamento que causasse o mínimo de danos ao tecido pulpar. O estudo foi realizado *in vivo* em seis cães que receberam inicialmente administração de tetraciclina. Após a erupção dos dentes permanentes, com manchamento amarelado induzido pela tetraciclina, os dentes caninos de cada animal foram submetidos à aplicação do peróxido de hidrogênio 35% associado ao calor (62°C) durante 15, 30 ou 45 minutos. Foram realizadas quatro sessões em intervalos de quinze dias em cada grupo, sendo que o grupo controle permaneceu sem qualquer tratamento. Os cães foram sacrificados em períodos de 13, 62 e 92 dias após a última sessão do tratamento clareador e os dentes foram preparados para análise microscópica. Verificou-se que, quanto mais longo o período de aplicação do peróxido de hidrogênio e calor, mais severas foram as respostas pulpares, evidenciando a formação de dentina reparadora, achatamento dos odontoblastos, hemorragia pulpar e presença de infiltrado inflamatório crônico. Os autores concluíram que os danos causados à polpa são reversíveis, mas contra-indicam tratamentos clareadores por períodos prolongados já que quanto maior o tempo de contato do produto com o esmalte, maior é a sua penetração em quantidade e profundidade.

Os efeitos pulpares podem estar relacionados à velocidade de decomposição do agente clareador. Chen et al.¹⁸ (1993) avaliaram a liberação de oxigênio a partir do peróxido de hidrogênio em soluções ácidas e básicas, além do efeito do calor e da presença de íons metálicos na sua decomposição. As seguintes soluções foram testadas: peróxido de

hidrogênio 30%; peróxido de hidrogênio associado ao ácido clorídrico 36% e éter (semelhante a solução de McInnes); peróxido de hidrogênio 30% e cloreto férrico; peróxido de hidrogênio 30% e hidróxido de cálcio. A liberação de gás oxigênio foi mensurada à temperatura ambiente (20°C) e após aquecimento a 45°C. Verificou-se que a maior liberação de oxigênio ocorreu na solução de peróxido de hidrogênio 30% e hidróxido de cálcio em temperatura ambiente. Ainda observou-se que a decomposição do peróxido de hidrogênio 30% isolado foi acelerada pelo calor, assim, os autores recomendam a utilização do peróxido de hidrogênio à temperatura ambiente para minimizar possíveis danos ao tecido pulpar.

Tipton et al.⁸⁹ (1995) preocupados com os possíveis efeitos nos tecidos dentários causados por exposições prolongadas aos agentes clareadores, realizaram um estudo para determinar a ação destes agentes sobre fibroblastos gengivais *in vitro*. Culturas de fibroblastos humanos foram expostas ao peróxido de hidrogênio e analisadas quanto à proliferação celular, produção de colágeno e de fibronectina. A análise microscópica revelou que soluções com concentrações de 0,05% a 0,025% do agente causaram morte da maioria das células. Em concentrações de 0,025% e 0,017% algumas mudanças morfológicas foram notadas e em concentrações iguais ou menores que 0,0125% as células apresentaram características morfológicas normais. Entretanto, em concentrações superiores a 0,006% ocorreu inibição da reprodução celular e em concentrações maiores que 0,0125% houve a redução da produção de fibronectina e colágeno tipo I e III. A enzima catalase, que é responsável pela quebra do peróxido de hidrogênio, foi usada para neutralizar o meio e eliminou os efeitos deletérios do agente clareador. Os resultados mostraram que, *in vitro*, o agente clareador é tóxico aos fibroblastos gengivais, inibindo várias funções celulares. Os autores acreditam que enzimas presentes no meio bucal, como a catalase, glutathione peroxidase e a lactoperoxidase, são capazes de neutralizar o

agente clareador, protegendo os tecidos e seus componentes celulares de possíveis efeitos adversos.

Com o intuito de avaliar o comportamento de agentes utilizados no clareamento caseiro e de consultório, Gómez et al.³⁸ (1999), realizaram uma pesquisa clínica comparando o peróxido de carbamida 10% e o peróxido de hidrogênio 35%. Vinte pacientes com pigmentações dentárias foram submetidos ao clareamento pelas técnicas de consultório e caseira. Na arcada superior, os dentes receberam a aplicação do peróxido de hidrogênio 35% (Superoxol) associado ao calor durante 20 a 30 minutos, com subsequente polimento da superfície do esmalte. Para o clareamento da arcada inferior, foi realizado o clareamento caseiro com uso da moldeira com peróxido de carbamida 10% (Nite-White) durante à noite por um período de dez dias. Ao final do tratamento, os autores compararam as alterações de cores produzidas em ambas as técnicas através de fotografias, e verificaram a sensibilidade dentária através de teste térmico. Observaram que o peróxido de hidrogênio promoveu alteração de cor e sensibilidade estatisticamente maiores quando comparado com o peróxido de carbamida.

Fugaro et al.³⁰ (2004) avaliaram as mudanças histológicas da polpa após o clareamento caseiro com gel peróxido de carbamida 10%. Quinze pacientes possuindo 45 premolares indicados para extração por motivos ortodônticos foram selecionados para o estudo. Os dentes foram divididos em quatro grupos tratados de acordo com os seguintes protocolos: dentes tratados durante quatro dias, dentes tratados durante duas semanas, dentes tratados durante duas semanas seguido de duas semanas sem tratamento e dentes que não receberam nenhum tipo de tratamento (grupo controle). Os pacientes foram instruídos a usar a moldeira com agente clareador por pelo menos seis horas ao dia. Todos os dentes foram extraídos no mesmo período. Os resultados da análise microscópica indicaram que a maioria dos dentes experimentais e controle não apresentaram reações pulpares significantes, sendo que

apenas 16 dentes mostraram alteração pulpar de intensidade leve e limitada a parte coronária. Além disso, as alterações pulpares desapareceram após duas semanas do tratamento clareador. Os autores concluíram que o tratamento de dentes com vitalidade pulpar com peróxido de carbamida 10% é considerado seguro para a polpa dental.

2.4 Efeito do agente clareador sobre os materiais restauradores

Em 1998, Owens et al.⁶⁷ verificaram o efeito de agentes clareadores a base de peróxido de carbamida sobre a microinfiltração de restaurações classe V em dentes humanos. Utilizaram duzentos dentes divididos em cinco grupos (A-E) contendo quarenta espécimes cada. Os grupos A-D receberam cavidades classe V e foram restaurados com cimento ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC), com resina composta (Helioprogress), com resina composta (Aelitefil) e com um compômero (Dyract), respectivamente. Após o término das restaurações os dentes dos grupos A-D receberam tratamento com peróxido de carbamida 3% (Rembrandt), 11% (White & Brite), 16% (Perfecta) e 35% (Superoxyl). O grupo E não recebeu preparo cavitário nem aplicação de agente clareador e serviu como grupo controle. Depois do tratamento clareador, todos os dentes foram termociclados por 100 ciclos e a microinfiltração avaliada pela penetração de corante. Os resultados indicaram que o grupo restaurado com resina composta Aelitefil apresentou os maiores valores de microinfiltração comparada aos outros materiais expostos a várias concentrações de agentes clareadores.

Yap & Wattanapayungkul⁹⁷ (2002) investigaram os efeitos dos agentes clareadores para consultório sobre a microdureza de quatro diferentes materiais restauradores. Foram confeccionados 27 espécimes dos seguintes materiais: resina composta (TPH Spectrum), compômero

(Dyract AP), resina composta (Reactemer) e cimento ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC) que foram divididos em três grupos contendo cada um nove espécimes. a) Grupo 1: estocagem em água destilada por três semanas (controle); b) Grupo 2: tratados com peróxido de carbamida 35% (Opalescence Quick) aplicado 30 minutos por semana durante três semanas; c) Grupo 3: tratados com peróxido de hidrogênio 35% (Opalescence Xtra) aplicado 30 minutos por semana durante 3 semanas. Em seguida os espécimes foram submetidos ao teste de microdureza e os resultados indicaram que a resina composta (TPH Spectrum) apresentou os maiores valores de microdureza em relação aos outros materiais. Verificou-se também que a resina composta (Reactemer) apresentou valores de microdureza superiores aos dos compômero (Dyract AP) e cimento ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os espécimes tratados com os agentes clareadores e o grupo controle. Os autores concluem que os agentes clareadores de consultório testados no experimento não são capazes de afetar a microdureza dos materiais restauradores avaliados.

Wattanapayungkul & Yap⁹⁵ (2003) avaliaram os efeitos dos agentes clareadores para consultório sobre o acabamento de superfície de quatro diferentes materiais restauradores. Para isso foram confeccionados 27 espécimes dos seguintes materiais: resina composta (TPH Spectrum), compômero (Dyract AP), resina composta (Reactemer) e cimento ionômero de vidro modificado por resina (Fuji II LC) que foram divididos em três grupos contendo cada um nove espécimes. Os espécimes do grupo 1 foram estocados em água destilada por três semanas (controle). Os espécimes do grupo 2 e 3 foram tratados com peróxido de carbamida 35% (Opalescence Quick) e peróxido de hidrogênio 35% (Opalescence Xtra), respectivamente. Foram realizadas um total de três sessões de clareamento de 30 minutos com intervalo de uma semana. Em seguida os espécimes foram analisados quando a

aspereza de superfície e os resultados indicaram que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os espécimes tratados com os agentes clareadores e o grupo controle. Concluíram que os agentes clareadores de consultório testados no experimento não são prejudiciais para o acabamento dos materiais restauradores.

Mair & Joiner⁵⁷ (2004) investigaram os efeitos da solução de peróxido de hidrogênio sobre três tipos de cimentos ionômeros de vidro. Foram preparados discos de três cimentos ionômeros de vidro: ChemFlex, Fuji II e Ketac-Fil. Os discos sofreram dois tipos de tratamento, sendo assim divididos em dois grupos. No primeiro grupo, os espécimes foram imersos em soluções de água deionizada, solução tampão fosfato de potássio, peróxido de hidrogênio 6%, bebida gasosa (Coca-cola e Schweppes) e ácido ortofosfórico 38%. O tempo de imersão foi de 60 min. Antes e depois da precipitação, as soluções foram analisadas quanto a quantidade de íons Al, Ba, Ca, Na, Si e Zn para verificar a degradação dos materiais restauradores nestas soluções. No segundo grupo, duas amostras de cada material restaurador foram expostas ao peróxido de hidrogênio 6% durante 30 min, água destilada, bebida gasosa (Coca-cola e Schweppes) por 2min e ácido ortofosfórico 38% por 2min e depois levadas a uma máquina de desgaste por 2min. Os resultados mostraram que os agentes clareadores não produzem efeitos significantes na superfície de cimentos de ionômero de vidro.

2.5 Atividade enzimática dos tecidos

As reações pulpares frente ao clareamento de dentes com vitalidade pulpar e suas conseqüências para este tecido foram investigadas por Bowles & Thompson¹⁵ (1986). Neste estudo examinaram os efeitos do peróxido de hidrogênio e calor, separadamente ou

associados, sobre sete enzimas encontradas no tecido pulpar de dentes bovinos. Foram utilizados oitenta incisivos bovinos os quais tiveram as polpas removidas e preparadas para obtenção de um extrato pulpar que foi armazenado a 4°C. Foram realizados quatro tipos de experimento: a) o extrato foi mantido imerso em água a 50°C por um período de 1 a 30 minutos, seguidos do resfriamento a 4°C em banho de gelo; b) o extrato pulpar foi exposto ao peróxido de hidrogênio, obtendo-se concentração final variando de 1,25 a 1,5%; c) o extrato pulpar foi exposto ao peróxido de hidrogênio em concentrações de 2,5, 7,5 e 15% e em seguida imerso em banho quente por 7,5, 15 e 30 minutos, respectivamente; d) controle – o extrato pulpar foi diluído em solução de tampão fosfato. Após os tratamentos, as amostras sofreram diálise e a estas foram adicionadas duas gotas de catalase para remover o peróxido de hidrogênio remanescente que pudesse interferir na análise enzimática. A atividade enzimática foi determinada pela análise em espectrofotômetro. Observou-se que quando o extrato pulpar sofreu tratamento com calor, somente algumas enzimas mostraram variações consideráveis em sua atividade. A sensibilidade enzimática decresceu significativamente quando em contato com o peróxido de hidrogênio isoladamente. No entanto, as enzimas pulpares foram inibidas quando houve a associação do peróxido de hidrogênio com aplicação do calor. Os resultados do estudo sugerem que o dano das células pulpares decorrentes do clareamento pode resultar em inativação das enzimas e conseqüente interrupção das atividades celulares normais.

Carlsson¹⁷ (1987) relatou que as células convertem o oxigênio através de reações de redução em produtos tóxicos intermediários, como radicais superóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxilas. As células se defendem destes produtos intermediários através de três mecanismos: prevenção da formação destes produtos, através da eliminação destes produtos ou ainda pela reparação dos locais danificados. O sistema de defesa das células encontra-se intracelular, no

fluido tissular, no plasma sangüíneo e nas secreções externas. Na cavidade bucal a peroxidase salivar protege as glândulas salivares e as células da mucosa bucal da toxicidade do peróxido de hidrogênio, produzido pelas bactérias e pelas células das glândulas salivares, através da conversão do peróxido em oxigênio e água. Junto com a peroxidase ainda podem agir as enzimas catalase e superóxido-dismutase, entretanto a maior parte da defesa da saliva contra os subprodutos do peróxido de hidrogênio deve-se à peroxidase salivar.

Bowles & Burns¹⁴ (1992) realizaram um estudo para determinar se o tecido pulpar possui atividade das enzimas catalase e peroxidase que o proteja durante o procedimento de clareamento para dentes com vitalidade pulpar. Para isso, foram utilizados trinta molares humanos hígidos recém-extraídos. As polpas foram extirpadas, pesadas e homogeneizadas obtendo-se um extrato pulpar que foi adicionado a uma solução tampão fosfato. A degradação do peróxido de hidrogênio em contato com o extrato pulpar foi analisada pela atividade das enzimas catalase e peroxidase. Em presença de baixas concentrações de peróxido, a decomposição enzimática é uma reação de primeira ordem, sendo a velocidade e a constante da reação iguais a concentração da enzima. Os dados obtidos foram comparados a uma solução em branco permitindo verificar que a atividade da enzima catalase foi muito baixa e a ação da peroxidase foi praticamente inexistente. Os autores concluíram que a inibição do peróxido de hidrogênio por enzimas presentes no tecido pulpar é muito pequena e sugerem que há necessidade de cautela no uso de agentes clareadores no clareamento de dentes com vitalidade pulpar.

Em 1993, Rotstein⁷⁶ avaliou a eficácia da enzima catalase para a eliminação do peróxido de hidrogênio residual do clareamento intra-coronário em dentes humanos. Vinte e dois premolares extraídos por razões ortodônticas tiveram suas câmaras pulpares preenchidas com peróxido de hidrogênio 30%. Os dentes foram mantidos em uma incubadora com temperatura 47°C por 60 minutos, e em seguida foram

tratados com catalase ou enxaguados com água. A penetração radicular do peróxido de hidrogênio foi verificada imediatamente após o clareamento e após o enxágüe com catalase ou água. Observou-se que após três enxágües de 5 minutos com água houve redução significativa do peróxido residual, enquanto que uma única aplicação da catalase durante 3 minutos foi suficiente para a eliminação total do peróxido de hidrogênio. Os autores sugerem a utilização da catalase como coadjuvante ao procedimento clareador para a eliminação do peróxido de hidrogênio residual e, assim, diminuir a agressão provocada pelos materiais clareadores.

Anderson et al.³ (1999) verificaram a existência da função protetora da heme-oxigenase-1 frente ao estresse oxidativo da polpa quando da aplicação de peróxido de carbamida 10%. Premolares indicados para exodontia por motivos ortodônticos foram divididos em dois grupos: 17 dentes foram clareados com peróxido de carbamida 10% durante 4 horas e 14 dentes não receberam clareamento. Os dentes foram extraídos, fixados, desmineralizados, congelados, seccionados e marcados histoquimicamente com anticorpo anti-heme-oxigenase-1. O controle negativo foi feito em dois cortes de cada grupo, que não receberam marcação. O controle positivo foi feito com cortes de baço de rato, por se tratar de tecido com maior quantidade da enzima dentre todos os tecidos estudados. Os autores observaram ausência de reação inflamatória e marcação mais intensa das células da camada odontoblástica, que são as primeiras células a responder às agressões externas. Estes achados indicam que a polpa responde ao estresse oxidativo em nível molecular, o que pode explicar a reversibilidade dos danos causados durante o clareamento.

Hernandez-Ruiz et al.⁴⁶ (2001) analisaram a atividade da peroxidase extraída de rábano silvestre e sua inativação pelo peróxido de hidrogênio. A peroxidase extraída de rábano silvestre quando colocada em contato com o peróxido de hidrogênio leva a decomposição de

oxigênio, sendo este mecanismo semelhante à ação da catalase. Os autores verificaram que a peroxidase atua melhor em pH superiores a 6,5, permitindo maior resistência da enzima à inativação durante a incubação com o peróxido de hidrogênio. Concluíram, portanto, que a peroxidase extraída de rábano silvestre possui um mecanismo protetor contra a inativação pelo peróxido de hidrogênio, à semelhança do que acontece *in vivo* com a catalase.

Esposito et al.²⁵ (2003) examinaram a capacidade protetora da polpa dentária humana em relação ao peróxido de hidrogênio em condições de saúde pulpar ou pulpites reversíveis e irreversíveis através da determinação da atividade da catalase. No estudo foram avaliadas clinicamente e radiograficamente as condições dos tecidos pulpare de 35 pacientes, verificando que 11 tecidos pulpare estavam sadios, 12 apresentavam pulpite reversível e 12 apresentavam pulpite irreversível. Em seguida, as polpas foram extirpadas, pesadas e homogeneizadas obtendo-se um extrato pulpar que foi adicionado a uma solução tampão fosfato. A degradação do peróxido de hidrogênio em contato com o extrato pulpar foi analisada pela atividade da enzima catalase. A atividade da catalase foi de 1,61 +/- 0,23Umg(-1) em polpas sadias, de 2,99 +/- 0,45Umg(-1) em pulpites reversíveis e de 2,44 +/- 467Umg(-1) em pulpites irreversíveis. Verificou-se que houve uma maior atividade da catalase em tecidos pulpare inflamados comparado à polpa sadia, pois ocorre um mecanismo defensivo contra o peróxido de hidrogênio que é liberado durante tais processos inflamatórios. A atividade enzimática mostrou-se maior na pulpite reversível comparada a irreversível devido a capacidade de reparação do tecido neste tipo de inflamação pulpar. Além disso, a baixa atividade enzimática na pulpite irreversível pode ser atribuída a progressão do processo inflamatório que levaria a depleção ou diminuição da catalase. Esses resultados apontam que a enzima catalase possui um importante papel durante a inflamação do tecido pulpar em humanos e,

portanto demonstra o inerente sistema defensivo biológico da polpa dentária contra os agentes oxidantes.

2.6 Substrato bovino e humano

Os dentes bovinos estão substituindo os humanos em muitas pesquisas, principalmente em testes de adesão. Nakamichi et al.⁶² (1983) compararam a força de adesão entre dentes humanos e bovinos usando vários cimentos e resinas compostas. Foram testados três cimentos de policarboxilato, um cimento de ionômero de vidro, um cimento fosfato de zinco e duas resinas compostas. Nos dentes humanos e bovinos foram realizadas cavidades e preenchidas com os diferentes materiais e submetidos ao teste de tração. A adesão ao esmalte e à camada superficial de dentina não mostrou diferenças estatísticas significantes entre os dentes bovinos e humanos para todos os materiais testados, embora os valores médios foram levemente mais baixos nos dentes bovinos. Também foram estudados a relação da profundidade dentinária e o tempo de armazenamento dos dentes com a resistência adesiva. Verificaram que as camadas superficiais da dentina bovina apresentaram maiores valores de resistência adesiva que as camadas mais profundas. Quanto ao tempo de armazenamento, observaram que depois de seis meses os dentes bovinos apresentaram valores superiores de resistência adesiva quando comparados aos dentes bovinos frescos nos grupos que utilizaram resina composta e condicionamento ácido. Os autores concluem que os dentes bovinos foram substitutos aos dentes humanos no teste de adesão.

Titley et al.⁹⁰ (1988) compararam a resistência adesiva entre esmaltes bovinos submetidos ou não ao tratamento clareador com peróxido de hidrogênio. No experimento foram utilizados 256 incisivos

bovinos que foram cortados na junção cimento-esmalte. Cilindros de resinas, híbrida ou de micropartículas, foram aderidos na superfície do esmalte dos dentes bovinos. Quatro grupos foram preparados para cada teste, contendo 64 espécimes: a) Grupo 1 (experimental) os dentes foram imersos em solução de peróxido de hidrogênio 35% por 60 min, lavados e secos; depois condicionamento com ácido fosfórico 37% por 60s; b) Grupo 2 (controle) os dentes foram imersos em solução salina fisiológica por 60 min, lavados e secos; depois condicionamento com ácido fosfórico 37% por 60s; c) Grupo 3 (experimental) condicionamento com ácido fosfórico 37% por 60s e em seguida imersão em solução de peróxido de hidrogênio 35% por 60 min, lavados e secos; d) Grupo 4 (controle) condicionamento com ácido fosfórico 37% por 60s e em seguida imersão em solução salina fisiológica por 60 min, lavados e secos. Em todos os dentes foi realizada a aplicação do sistema adesivo (Scotchbond Dual Cure) e a restauração com dois tipos de resina composta (Silux Microfil Restorative e Valux Small Particle Restorative). Os dentes foram, então, armazenados em água a 37°C durante um ou sete dias e depois levados para a realização do teste de tração e cisalhamento. Os resultados indicaram que nos espécimes tratados com solução salina fisiológica ocorreu diferença estatística na resistência adesiva entre os dentes estocados por um dia e por sete dias. Não houve diferença estatisticamente significativa na resistência adesiva entre os espécimes restaurados com resina microhíbrida ou de micropartículas. A diferença estatística da resistência adesiva entre os grupos tratados com solução salina fisiológica e os grupos tratados com peróxido de hidrogênio 35% foi altamente significativa. Os resultados mostraram que a exposição ao peróxido de hidrogênio por 60 min causa uma significativa redução na resistência adesiva entre esmalte e resina. Isso sugere que uma mudança na composição química e estrutural pode ter ocorrido na superfície do esmalte depois da exposição prolongada ao peróxido de hidrogênio.

Ruse & Smith⁷⁸ (1991) investigaram a superfície da dentina por espectroscópio usado para caracterizar a composição química da dentina, para determinar os efeitos dos diferentes pré-tratamentos na superfície dentinária e finalmente investigar a interação entre dentina e agente adesivo frente as mudanças na composição da dentina. No estudo foram utilizados dentes bovinos, os quais possuem uma insignificante diferença na composição em relação aos dentes humanos. Dentes bovinos foram preparados para a análise através de desgaste ou fratura dentinária. Para o estudo as amostras receberam diferentes pré-tratamentos da dentina com peróxido de hidrogênio por 30s, ácido clorídrico por 1min ou ácido fosfórico por 1min ou 2min. A *smear layer* presente na dentina não permitiu que ocorresse uma adesão adequada entre este substrato e o agente adesivo, semelhante a dentina humana. O tratamento da superfície dentinária com peróxido de hidrogênio 3% não produziu alterações na sua composição; a aplicação de solução de ácido clorídrico 1% levou a completa desmineralização da superfície dentinária causando um efeito negativo sobre a matriz orgânica. O condicionamento com ácido fosfórico promoveu uma desmineralização quase completa da superfície avaliada expondo a matriz orgânica. Os resultados sugerem que o condicionamento com ácido fosfórico é efetivo para promover uma boa adesividade entre a dentina e agente adesivo. A investigação por MEV mostrou que a maioria das falhas decorrentes da fratura na interface adesiva foi de caráter coesivo. Os autores concluíram que dentes bovinos podem ser usados em substituição aos dentes humanos em pesquisas *in vitro*.

A liberação de peróxido de hidrogênio a partir do esmalte bovino clareado foi investigada por Adibfar et al.¹ (1992). Fragmentos padronizados de esmalte bovino foram imersos em 2ml de peróxido de hidrogênio 35% durante 1, 3, 5, 30 ou 60 minutos, permanecendo o grupo controle imerso em solução salina fisiológica durante 60 minutos. Todas as amostras foram lavadas, condicionadas com ácido fosfórico 37%

durante um minuto, sendo novamente lavadas e secas. Em seguida, foram imersas em 2ml de água bi-destilada para avaliar a liberação de peróxido de hidrogênio residual a partir do esmalte clareado, durante 1, 5, 10, 20 minutos ou sete dias. Um dos grupos foi submetido a este procedimento por duas vezes. O peróxido de hidrogênio presente nas soluções foi quantificado em espectrofotômetro, através da reação com corante violeta leucocristal e peroxidase. Os resultados mostraram haver diferença significativa na liberação de peróxido de hidrogênio das amostras clareadas quando comparadas ao esmalte imerso em solução salina fisiológica. Nos fragmentos de esmalte submetidos à análise pela segunda vez, não se observou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle. Os autores concluíram que, sob imersão, a liberação completa de peróxido de hidrogênio residual a partir do esmalte clareado ocorre rapidamente e sugerem outra investigação utilizando saliva como meio de imersão para verificar se a liberação do peróxido de hidrogênio acontece do mesmo modo.

Banks⁸, em 1992, baseado em estudos de histologia veterinária, descreveu a pré-dentina bovina como um produto inicial de secreção dos odontoblastos, cuja mineralização resulta na dentina. De acordo com o autor, os dentes dos mamíferos são formados pelos mesmos componentes: esmalte, dentina e polpa, embora com diferenças histológicas e macroscópicas. Os dentes posteriores dos ruminantes são denominados hipsodontes, são mais complexos, estão em constante erupção e não possuem coroa, colo ou raiz definidos. Nestes dentes, o órgão do esmalte sempre se rompe antes da erupção, deixando o tecido conjuntivo do saco dental em contato com o esmalte recém-formado, assim, o cemento é depositado sobre o esmalte. Os dentes anteriores dos ruminantes, denominados braquidontes, são mais semelhantes morfológicamente aos dentes humanos. Sua coroa é formada por esmalte e dentina, o colo é definido, assim como a coroa e raiz. A raiz formada por

cimento que recobre a dentina. Seu tecido pulpar é ricamente vascularizado e innervado, formando um tecido conjuntivo frouxo.

Reeves et al.⁷⁴ (1995) realizaram um estudo para avaliar o comportamento de microinfiltração de três adesivos dentinários e determinar se o dente bovino pode ser comparado ao dente humano. Para tanto, utilizaram os adesivos Scotchbond Multi-Purpose, Prisma Universal Bond 3 e All-bond 2 e a resina híbrida Prisma APH. Foram utilizados sessenta dentes humanos e bovinos, nos quais foram realizadas cavidades classe V na junção cimento-esmalte. Após a restauração, os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C por três dias, seguido de termociclagem de 100 ciclos a 4 °C - 58 °C, e retornaram à água destilada por mais quatro dias. Foi utilizado isótopo de cálcio para verificar a microinfiltração, que foi avaliada aplicando-se escores, os quais foram submetidos à análise estatística de Mann-Whitney U e Kruskal-Wallis. Os autores concluíram que não houve diferença estatisticamente significativa da infiltração entre as paredes incisal e gengival para o substrato humano, e que o substrato bovino apresentou infiltração maior na parede gengival; não houve diferenças significantes em microinfiltração entre os sistemas de união para o substrato humano e bovino. Assim, os resultados sugerem que os dentes bovinos podem ser usados no lugar de dentes humanos no estudo *in vitro* de microinfiltração.

Silva et al.⁸² (1996) compararam a resistência adesiva no esmalte e dentina de dentes humanos, bovinos e suínos, depois de 24 horas ou sete dias estocados em água e umidade relativa de 100%. Sessenta premolares superiores, sessenta incisivos bovinos e trinta molares suínos foram usados no estudo. Os dentes foram divididos em 12 grupos contendo cada um 15 espécimes, de acordo com o tipo de dente. As superfícies testadas foram preparadas com lixas de 180, seguida de lixas 400 e 600 e receberam a aplicação do sistema adesivo Prisma Universal Bond 3. Um cilindro de polietileno foi fixado sobre as superfícies

para limitar uma área onde foi preenchida com resina (APH/Compules). Para a análise da resistência adesiva foi utilizada uma máquina de teste Kratus. Os valores de resistência adesiva do esmalte foram significativamente maiores quando comparado a dentina; a resistência adesiva do esmalte humano não apresentou diferença estatisticamente com o esmalte bovino, entretanto os dentes suínos mostraram valores estatisticamente inferiores. Para a resistência adesiva em dentina dos dentes humanos, bovinos e suínos não houve diferenças estatísticas significativas. Ainda, os autores verificaram que a resistência adesiva após os dois períodos de estocagem (24h e sete dias) não apresentou diferenças estatísticas entre si. Concluíram que os dentes bovinos podem ser utilizados como substitutos aos dentes humanos em trabalhos de pesquisa, mesmo quando armazenados por até sete dias.

Attin et al.⁶ (1997) avaliaram a capacidade de indução de remineralização do esmalte bovino clareado com peróxido de carbamida 10% (Opalescence) utilizando diferentes tratamentos com flúor. Sessenta discos de esmalte bovinos foram submetidos a quatro tratamentos clareadores totalizando 12 horas e remineralização em saliva artificial por 8 horas. As amostras foram então divididas igualmente em quatro grupos (A-D). Durante a primeira hora de remineralização nos espécimes do grupo A foi aplicado um verniz fluoretado (Duraphat; 2-2,3% F⁻). No grupo B os discos de esmalte foram estocados em solução fluoretada (0-2% F⁻) por 1 minuto previamente à remineralização. O grupo C não recebeu nenhum tratamento com flúor e o grupo D (controle) não recebeu tratamento clareador e nem com flúor e foi estocado em água destilada durante todo o experimento. A microdureza do esmalte foi avaliada antes do experimento e depois do segundo e quarto tratamentos clareadores, respectivamente. A microdureza reduziu significativamente nos grupos A-C comparado ao grupo controle (D). Os espécimes que foram submetidos ao tratamento clareador e posteriormente não receberam o flúor (grupo C) mostraram um aumento significativo na perda da microdureza comparado

aos espécimes que receberam o tratamento com flúor, enquanto que nos grupos A e B não houve diferença estatística. Os autores concluíram que ocorre uma melhora significativa na remineralização do esmalte bovino clareado que recebeu tratamento posterior com flúor. Neste estudo a diminuição da microdureza foi observada após o clareamento. Esses achados contribuem para a conclusão que a modificação estrutural da superfície do esmalte bovino e sua remineralização após tratamento com flúor ocorre semelhante ao esmalte humano.

Bonfim¹³, em 2000, realizaram um estudo micromorfológico das dentinas humana e bovina. Para isto, utilizaram dentes bovinos recém-extraídos, fixados em formol a 10% por 24h e mantidos em formol 2% até o momento da preparação das lâminas. Foram preparadas dez lâminas pelo método de desgaste e cem lâminas foram preparadas por descalcificação e coradas pelos métodos de HE (hematoxilina e eosina) e Tricômio de Masson. De acordo com as observações das lâminas, os autores concluíram que a dentina bovina apresenta maior número de túbulos dentinários nas proximidades do tecido pulpar e menor número próximo ao limite amelodentinário, como ocorre na dentina humana. Com relação ao diâmetro dos túbulos, os túbulos dentinários da dentina bovina têm maior diâmetro próximo ao limite amelodentinário, sendo que o diâmetro diminui nas proximidades da polpa ao contrário do que ocorre na dentina humana. A distribuição da dentina intertubular bovina nas proximidades da polpa não é uniforme ao longo do dente e a dentina bovina possui estruturas tubulares que estão presentes tanto na coroa como na raiz, com maior frequência na coroa, não apresentando distribuição regular. Os autores observaram também que, quando se utilizam dentes bovinos simulando procedimentos de hibridização dentinária na região próxima à polpa, há menor permeabilidade devido ao menor diâmetro dos túbulos dentinários e maior área de dentina intertubular, ao contrário do que ocorre na dentina humana. Nas áreas próximas ao esmalte, encontraram menor número de túbulos com maior

diâmetro, tornando esta região menos mineralizada e mais permeável. Estas diferenças de permeabilidade e quantidade de conteúdo aquoso no fluido dentinário podem influenciar nos testes de microinfiltração e resistência à tração e cisalhamento, pois estão diretamente ligados à eficiência de hibridização. Verificaram também que os dentes bovinos utilizados em incidência e profundidades aleatórias podem alterar os resultados em testes de adesão e microinfiltração, quando comparados à dentina humana. Não há, morfologicamente, na dentina bovina uma região idêntica à dentina humana, a região que a dentina bovina mais se assemelha à dentina humana é na região mediana, em corte transversal, a área de dentina primária próxima à polpa. Contudo, há necessidade de mais estudos para complementar seus achados.

Miranda et al.⁶⁰, 2001, compararam a dentina superficial e a profunda humana e bovina quanto à densidade tubular, ao diâmetro dos túbulos e ao percentual de dentina intertubular, em MEV. Foram utilizados 14 molares humanos (DH) e 13 incisivos bovinos (DB). Os dentes foram seccionados em diferentes profundidades: o corte superficial foi feito $1 \pm 0,5$ mm abaixo da junção amelo-dentinária e o corte profundo $1 \pm 0,5$ mm acima da câmara pulpar, sendo nos molares paralelo à superfície oclusal e nos incisivos paralelo ao terço médio da face vestibular. Após condicionamento, com ácido fosfórico 37% por 10s, as superfícies dentinárias foram observadas em MEV. Para cada espécime, foi feita uma imagem com aumento de 1000 X. A área total destas imagens foi medida, todos os túbulos dentinários contados e o diâmetro de doze túbulos dentinários, escolhidos aleatoriamente, medidos através de cursor do MEV. O percentual de dentina intertubular foi obtido pelo programa Image Lab 2.3. Os autores concluíram que a dentina superficial e profunda humana apresentam, em relação à dentina bovina, maior densidade tubular, menor diâmetro tubular e o mesmo percentual de dentina intertubular.

A proposta do estudo de Kwon et al.⁵² (2002) foi examinar os efeitos do agente clareador (peróxido de hidrogênio 30%) na superfície do esmalte bovino utilizando um microscópio eletrônico de varredura e um espectrofotômetro. Cinco incisivos bovinos foram submetidos a uma leitura de cor inicial e depois clareados por um, dois e três dias utilizando peróxido de hidrogênio 30%. Os valores e diferenças de cor dos dentes foram avaliados por mensuração de reflectância com o sistema coordenado de cores. As alterações nos dentes clareados e não-clareados foram estudados utilizando um microscópio eletrônico de varredura. A mudança na reflectância dos dentes foi próxima a mudança de cor, sendo que a mudança na reflectância ocorreu depois de um dia de clareamento e o resultado foi confirmado pelo sistema coordenado de cores. As diferentes cores dos dentes clareados foram suficientes para serem percebidas a olho nu. A comparação entre o esmalte bovino clareado e não-clareado revelou que a superfície clareada mostrou-se não uniforme com leves alterações morfológicas, como perda de cristais e aumento de poros. Acredita-se que esses poros ocorrem devido ao rompimento das proteínas da matriz do esmalte e subsequente perda de materiais desta matriz pela oxidação de radicais livres. Os radicais livres penetram na estrutura do esmalte mais facilmente através da fase orgânica. A interação do esmalte com o peróxido de hidrogênio causa liberação de radicais livres para o esmalte. A distância entre os cristais do esmalte aumentou e assim a distribuição dos cristais ficou menos compacta que anteriormente ao tratamento clareador. Este estudo indica que o dente bovino clareado mostrou aparentemente cores diferentes bem como alterações morfológicas leves após o clareamento.

3 PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho é avaliar a quantidade de peróxido presente no interior da câmara pulpar após clareamento com peróxido de hidrogênio 38%. Esta avaliação foi realizada em dentes bovinos e humanos com ou sem restauração.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Padronização do Peróxido de Hidrogênio

A primeira etapa do experimento foi padronizar a solução de peróxido de hidrogênio que serviu de parâmetro para se obter a curva padrão, cujos dados foram comparados com os resultados da pesquisa. O método empregado para a padronização foi a iodometria, que consiste na reação do peróxido de hidrogênio, em meio ácido, com a solução de iodeto de potássio (ou sódio) 1M liberando iodo, resultando em uma solução de coloração âmbar escuro. O iodo liberado foi titulado com uma solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,1N, adicionada gota a gota, até que a solução tornou-se incolor, ou seja, até o consumo total do iodo dissolvido na solução. Durante este processo, ocorreram as seguintes reações:

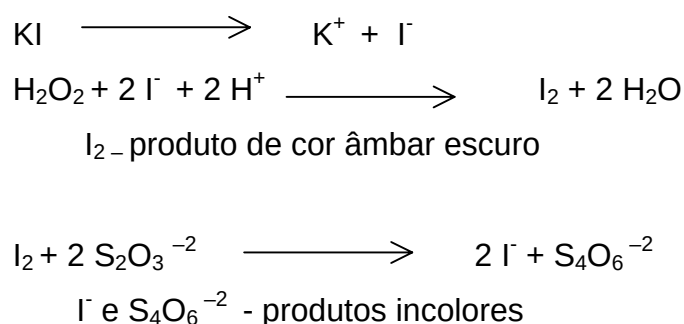


FIGURA 1 – Reações químicas observadas pelo método de iodometria.

4.1.1 Preparo das soluções

- a) solução de iodeto de potássio: foram dissolvidos 16,6g de iodeto de potássio (KI –Merck, Alemanha) p.a. em 100ml de água deionizada, obtendo-se uma solução 1M;
- b) solução padrão de tiosulfato de sódio: foram pesados 24,82g de tiosulfato de sódio penta-hidratado p.a. ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - Carlo Erba, Itália) e dissolvidos em 1000ml de água deionizada, obtendo-se a solução padrão de tiosulfato de sódio 0,1N;
- c) solução de amido: em 100ml de água deionizada foi dissolvido 0,5g de amido solúvel p.a. (Synth – Labsynth Ltda.), obtendo-se uma solução de amido de concentração 5g/l. A solução foi fervida durante cinco minutos e, após resfriamento, foi filtrada com algodão;
- d) mistura ácida: em banho de gelo, foram dissolvidos 0,09g de molibdato de amônio tetrahidratado p.a. $[(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ – B.Herzog, Brasil] em 375ml de água deionizada. Em seguida, foram vagarosamente acrescentados 160ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4), agitando sempre. A mistura ácida contendo catalisador (molibdato de amônio) foi essencial para que ocorresse a reação e, portanto, houvesse a liberação de iodo;
- e) solução de peróxido de hidrogênio: foram transferidos 5ml da solução de peróxido de hidrogênio a 35% v/v (H_2O_2 35% v/v, Asepticper – Solvay, Peróxidos do Brasil Ltda.) para um balão volumétrico de 1000ml contendo 250ml de água deionizada e duas gotas de ácido sulfúrico p.a. O volume do balão foi completado com água deionizada.

4.1.2 Titulação

Uma bureta de 25ml foi preenchida com a solução de tiossulfato de sódio 0,1N. Em um *erlenmeyer* contendo 200ml de água deionizada foram transferidos 20ml de solução de peróxido de hidrogênio, 10ml da solução de iodeto de potássio 1M e 25ml da mistura ácida. O frasco foi agitado, tampado e permaneceu em repouso em local escuro durante 10 minutos.

A solução do *erlenmeyer* foi titulada com a solução de tiossulfato de sódio, adicionando-se a solução de amido gota a gota até o ponto de viragem. A titulação foi realizada em triplicata e os volumes de tiossulfato de sódio gastos estão registrados no Quadro 1.

Quadro 1 – Volumes de tiossulfato de sódio gastos na titulação do peróxido de hidrogênio

<i>Titulação (A)</i>	<i>Volume de tiossulfato de sódio</i>
A1	23,5ml
A2	23,5ml
A3	23,2ml
Média	23,4ml

Paralelamente, foram efetuadas duas provas em branco, nas mesmas condições da amostra, porém substituindo a solução de peróxido de hidrogênio por solução tampão acetato. Os volumes de tiossulfato gastos nestas titulações encontram-se no Quadro 2.

Quadro 2 – Volumes de tiosulfato de sódio gastos na titulação das provas em branco

<i>Titulação do branco (B)</i>	<i>Volume de tiosulfato de sódio</i>
B1	0,6ml
B2	0,6ml
Média	0,6ml

A concentração da solução de peróxido de hidrogênio em g/l foi calculada empregando-se a fórmula:

$$C = \frac{(A - B) \cdot 85,04}{V}$$

Sendo: A= volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra;
B= volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco; C= concentração da solução de peróxido de hidrogênio; V= volume da amostra de peróxido de hidrogênio pipetada para diluição, em ml.

FIGURA 2 – Fórmula aplicada no cálculo da concentração em gramas por litro da solução de peróxido de hidrogênio.

Nas condições do experimento, A=23,4ml, B=0,6ml e V=5,0ml. Dessa maneira, calculou-se que a solução de peróxido de hidrogênio 35% (H₂O₂ 35% v/v, Asepticper – Solvay, Peróxidos do Brasil Ltda.) expressa em grama por litro foi determinada em 387,78g/l. A padronização foi necessária para determinar a concentração exata da solução de peróxido de hidrogênio a ser utilizada para o preparo de soluções padrões, que foram empregadas no levantamento da curva padrão.

4.2 Levantamento da curva padrão de peróxido de hidrogênio

Para o levantamento da curva padrão, foram preparadas as seguintes soluções:

- a) solução de corante violeta leucocristal: foram pesados 30mg do corante violeta leucocristal (leuco crystal violet 218215 – Aldrich, Estados Unidos) e dissolvidos em 60ml de solução de ácido clorídrico (HCl 0,5% v/v – Merck, Brasil), obtendo-se uma solução de concentração de 0,5mg/ml;
- b) solução de tampão acetato foi preparada em três etapas:
 - primeira etapa - Preparo da solução de acetato de sódio 2M: 68,05g de acetato de sódio ($\text{CH}_3\text{COONa} \bullet 3\text{H}_2\text{O}$ – Ecibra, Brasil) foram dissolvidos em 250ml de água deionizada.
 - segunda etapa - Preparo da solução de ácido acético 2M: 18,595ml de ácido acético glacial concentrado p.a. (CH_3COOH – Merck, Alemanha) foram diluídos em 250ml de água deionizada.
 - terceira etapa - Mistura das soluções: o tampão acetato foi obtido misturando-se volumes iguais de acetato de sódio 2M e ácido acético 2M. O pH da solução resultante foi ajustado a 4,5 com a adição de ácido acético glacial concentrado e utilizando um pHmetro calibrado (HANNA, modelo HI9224).
- c) solução de peroxidase: 10mg de peroxidase extraída de rábano silvestre (*Cochlearia armoracia* – peroxidase from horseradish P6782 – Sigma, Estados Unidos) foram dissolvidos em 10ml de

água deionizada, obtendo-se uma solução de concentração 1mg/ml;

- d) soluções padrões de peróxido de hidrogênio: 1,29ml da solução concentrada de peróxido de hidrogênio padronizada (concentração 387,78g/l) foi diluída em 100ml de solução de tampão acetato (2M, pH 4,5) obtendo-se uma solução contendo 5000µg/ml de peróxido de hidrogênio. Em seguida, 1ml desta solução foi novamente diluído a 100ml com tampão acetato, resultando em uma solução de concentração 50µg/ml, que foi posteriormente utilizada em diluições sucessivas obtendo-se amostras no intervalo de 0,25 a 2µg de peróxido de hidrogênio. Para que se obtivessem soluções diluídas, empregou-se a fórmula da diluição (Figura 3).

$$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f$$

Sendo: C_i = concentração inicial da solução de partida; V_i = volume inicial desta solução, que é a incógnita da equação; C_f = concentração final que se deseja obter; V_f = volume final desejado.

FIGURA 3 – Fórmula aplicada para a obtenção das soluções padrões diluídas de peróxido de hidrogênio.

Verifica-se, então, que a partir da solução de peróxido de hidrogênio de concentração 50µg/ml (Ci), o volume necessário desta solução (Vi) para se obter 100µl (Vf) de uma solução de concentração 20µg/ml (Cf) está demonstrado na Figura 4.

$$\begin{aligned}
 C_i \cdot V_i &= C_f \cdot V_f \\
 50 \cdot V_i &= 20 \cdot 100 \\
 V_i &= \frac{20 \cdot 100}{50} = 40 \\
 V_i &= 40\mu\text{l}
 \end{aligned}$$

FIGURA 4 – Fórmula da diluição exemplificando o cálculo dos volumes da solução de peróxido de hidrogênio empregados para a obtenção das soluções padrões.

As diluições necessárias para a obtenção das amostras contendo de 0,25 a 2µg de peróxido de hidrogênio estão demonstradas no Quadro 3.

Quadro 3 – Diluições realizadas para obtenção das amostras contendo 0,25 a 2µg de peróxido de hidrogênio

Amostras	Solução padrão	Solução tampão
2,0µg H ₂ O ₂	40µl	60µl
1,75µg H ₂ O ₂	35µl	65µl
1,5µg H ₂ O ₂	30µl	70µl
1,25µg H ₂ O ₂	25µl	75µl
1,0µg H ₂ O ₂	20µl	80µl
0,75µg H ₂ O ₂	15µl	85µl
0,5µg H ₂ O ₂	10µl	90µl
0,25µg H ₂ O ₂	5µl	95µl

4.2.1 Mensuração da absorbância

Para o registro da absorbância (densidade óptica) das soluções foram colocados, em cada tubo de ensaio, 2750µl de água deionizada, 100µl de solução de corante violeta leucocristal, 100µl de solução padrão de peróxido de hidrogênio diluída (Figuras 5B e 5C) (Quadro 3) e 50µl de solução de peroxidase. Para as diferentes concentrações de peróxido obtiveram-se diferentes intensidades da coloração azul (Figura 5D).

Paralelamente às amostras, foram realizadas duas provas em branco, nas mesmas condições citadas anteriormente, porém substituindo-se os 100µl de solução de peróxido de hidrogênio diluída por solução tampão acetato 2M, pH 4,5, sendo obtido o resultado do branco de 0,105 (Figura 5A).

Para aferir a densidade óptica, as soluções foram colocadas em cubetas (Figura 5E) para, em seguida, serem levadas a um espectrofotômetro (UV-Vis Spectrophotometer UV-1203 – Shimadzu) a 596nm (Figura 5F).

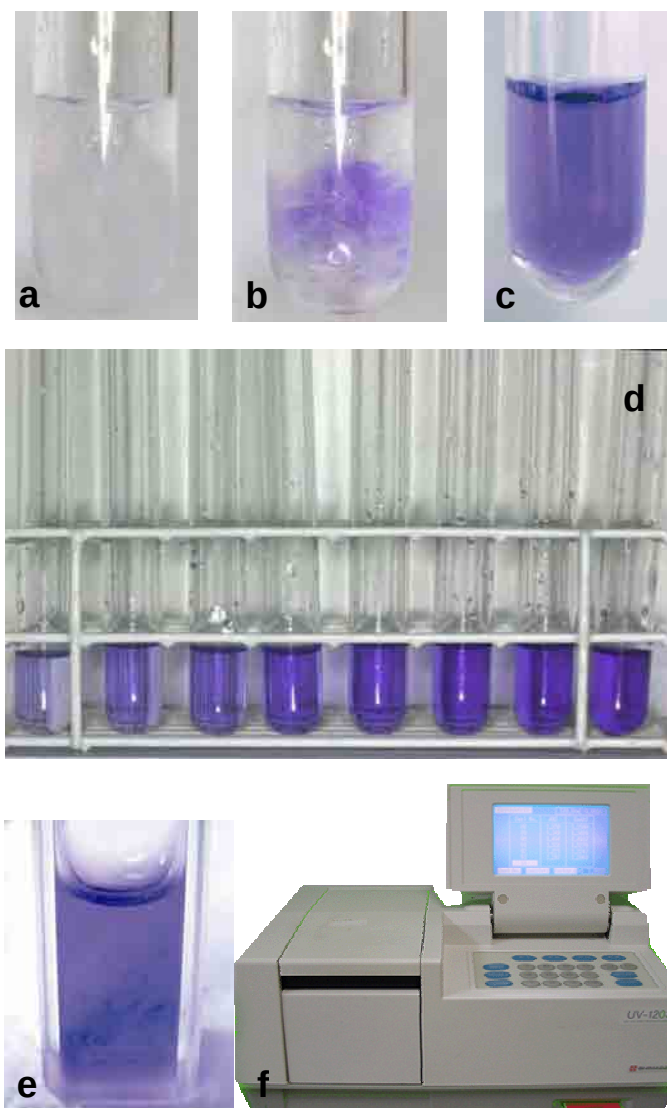
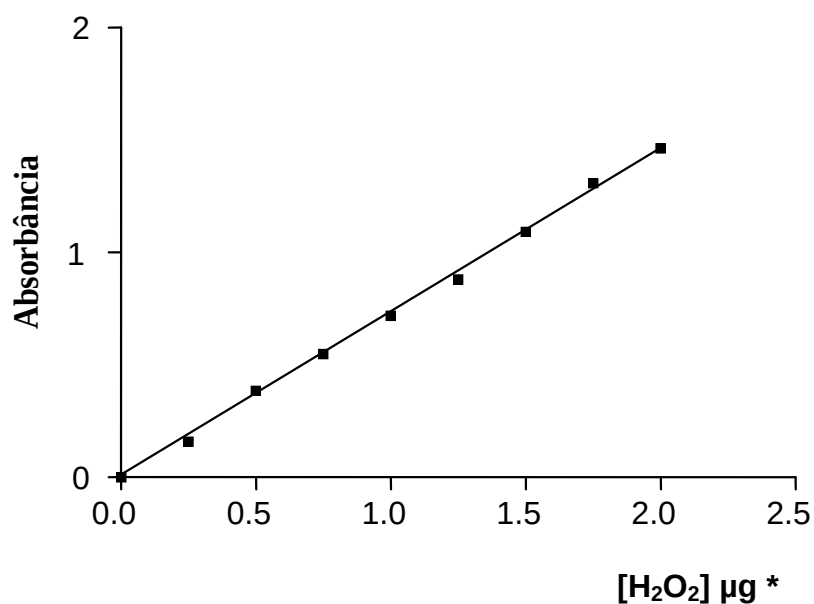


FIGURA 5 – Material utilizado no levantamento da curva padrão: a) prova em branco; b) adição de peróxido de hidrogênio; c) solução resultante da reação; d) amostras das soluções com diferentes concentrações de peróxido utilizadas no levantamento da curva padrão; e) cubeta contendo a solução a ser levada ao espectrofotômetro; f) espectrofotômetro.

Os valores médios de absorvância correspondentes a cada amostra foram registrados e estão representados na Figura 6.



* a quantidade de peróxido de hidrogênio está contida em 3ml de solução

FIGURA 6 - Representação gráfica da curva padrão de peróxido de hidrogênio

A partir do gráfico obtido, pôde-se calcular o fator de calibração (Fc), que corresponde à razão entre a concentração da solução padrão de peróxido de hidrogênio e sua respectiva absorvância:

$$F_c = \frac{\text{solução padrão}}{\text{absorvância}}$$

FIGURA 7 – Fórmula empregada para se calcular o fator de calibração.

O fator de calibração (Fc) médio obtido foi de 1,36 e foi utilizado para calcular a concentração de peróxido de hidrogênio contido nas amostras experimentais.

Após a padronização da solução concentrada de peróxido de hidrogênio e o levantamento da curva padrão, foi possível, testar, *in vitro*, a penetração de peróxido liberado a partir do gel clareador à base de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de incisivos laterais bovinos e terceiros molares humanos.

4.3 Preparo dos dentes

Este projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, protocolo nº **042/2004-PH/CEP** (Anexo A).

Para esta pesquisa foram utilizados dentes humanos e dentes bovinos, que foram considerados como grupo A e grupo B, respectivamente.

Os grupos A e B foram posteriormente subdivididos em subgrupos de acordo com a realização ou não de restaurações e de acordo com o material restaurador empregado.

4.3.1 Seleção e armazenamento dos dentes humanos

Foram adquiridos setenta terceiros molares humanos do arquivo da Disciplina de Endodontia – Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-

UNESP. Após a exodontia os dentes humanos foram colocados em solução de formol a 10% por 24h, seguido do armazenamento em solução salina fisiológica e congelados em freezer à -18°C.

Em seguida, as coroas receberam profilaxia com pedra pomes e água e os dentes foram avaliados em estereomicroscópio (Zeiss Stemi C 2000, Germany), sob aumento de 20 vezes, para detectar possíveis trincas ou fissuras que pudessem comprometer o resultado do estudo (Figura 8A).

Na sequência, as raízes dos dentes foram seccionadas 3mm apicalmente à junção amelo-cementária, utilizando discos de carborundum (Figura 8B). O tecido pulpar foi extirpado com auxílio de limas tipo Hedström (Maillefer – Michigan, USA) e o interior da câmara pulpar foi irrigado com solução salina fisiológica.

Posteriormente, procedeu-se a ampliação da abertura da cavidade pulpar na porção radicular (Figura 8C), utilizando-se broca esférica diamantada (n.1016, KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) seguida da broca tronco-cônica de ponta inativa (n.2082, KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) (Figura 8D) a fim de permitir a introdução da ponteira da micropipeta no interior da câmara pulpar. Foram selecionados dentes de tamanho semelhante, cujo interior da câmara pulpar pudesse armazenar, ao nível da junção amelo-cementária, 50µl de solução. A espessura de esmalte e dentina na região vestibular foi medida com um especímetro (Golgran, São Paulo, Brasil) e variou de 3 a 3,5mm.

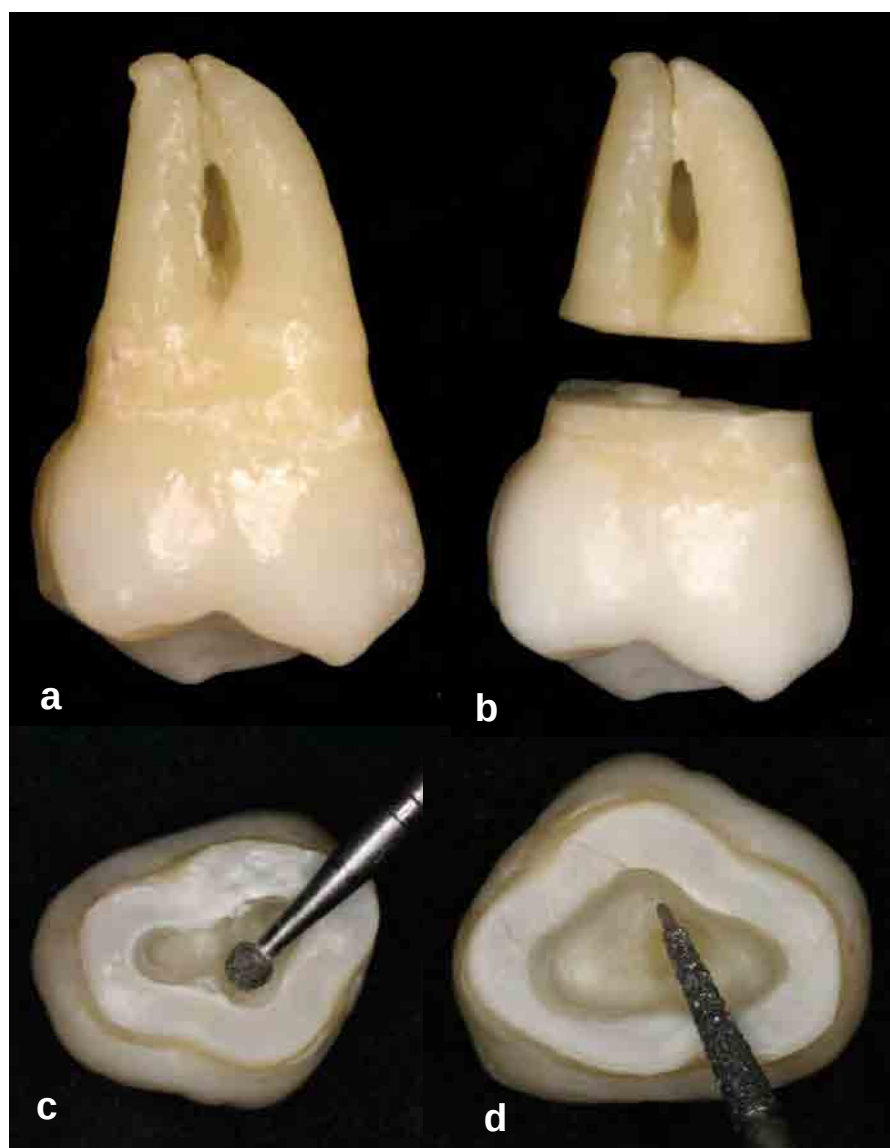


FIGURA 8 – Seqüência de preparo dos dentes humanos: a) terceiro molar hígido; b) secção da raiz; c) e d) abertura e ampliação da cavidade pulpar após extirpação da polpa.

4.3.2 Preparo das cavidades dos dentes humanos

Nos dentes a serem restaurados foram realizados preparos cavitários classe V no terço cervical vestibular, 1mm coronalmente à junção amelo-cementária, utilizando uma matriz metálica na qual foi confeccionado um molde para a padronização dos preparos. O molde foi preparado com auxílio de uma broca diamantada cilíndrica (n.2094, KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) e possuía as seguintes dimensões: 4mm de largura no sentido méso-distal e 2mm de largura no sentido cérvico-oclusal (Figura 9A).

As cavidades também foram preparadas com a broca n.2094 e foram padronizadas com 2mm de profundidade; para isto utilizou-se uma sonda milimetrada (Figuras 9B e 9C). As margens de esmalte foram biseladas em 0,5mm, utilizando-se uma broca diamantada de granulação fina tipo ponta de lápis (n.3195F KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) acoplada em baixa rotação (Figuras 9D e 9E). Após o preparo cavitário a espessura remanescente de dentina variou de 1 a 1,5mm, já que a profundidade dos preparos foi padronizada em 2mm.

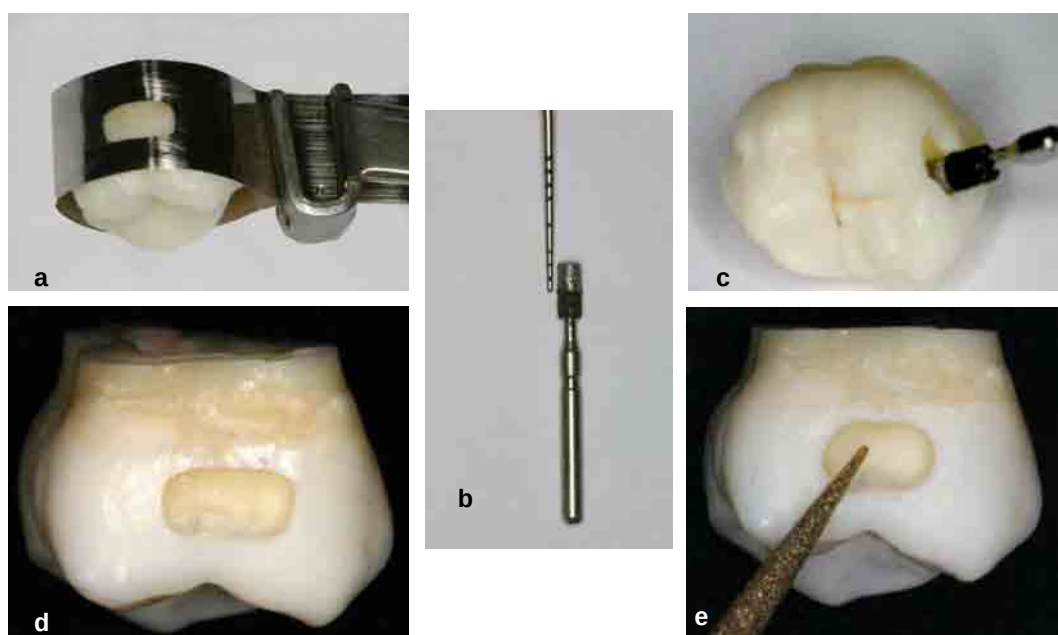


FIGURA 9 – Preparo das cavidades dos dentes humanos: a) matriz metálica onde foi confeccionado o molde; b) broca preparada e sonda milimetrada para padronização da profundidade dos preparos; c) broca preparada inserida no preparo; d) preparo cavitário; e) confecção do bisel

4.3.3 Seleção e armazenamento dos dentes bovinos

Foram obtidas mandíbulas bovinas em um frigorífico da região de São José dos Campos – SP, a partir das quais foram extraídos incisivos laterais bovinos. Após a exodontia, os dentes foram imediatamente imersos em uma cuba contendo solução salina fisiológica e congelados em freezer à -18°C.

Em seguida, o ligamento periodontal foi removido, a coroa recebeu profilaxia com pedra pomes e água (Figura 10 A) e os dentes foram avaliados em estereomicroscópio (Zeiss Stemi 2000–C, Germany), sob aumento de 20 vezes, para detectar possíveis trincas ou fissuras que pudessem comprometer o resultado do estudo.

Foram selecionados setenta incisivos laterais bovinos (Figura 10A), que tiveram suas raízes seccionadas 3mm apicalmente à junção amelo-cementária, utilizando-se discos de carborundum (Figura 10B). O tecido pulpar foi extirpado com auxílio de limas tipo Hedströen (Maillefer – Michigan, USA) e o interior da câmara pulpar foi irrigado com solução salina fisiológica.

Posteriormente, procedeu-se a ampliação da abertura da cavidade pulpar na porção radicular, utilizando-se broca esférica diamantada (n.1016, KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) (Figura 10C) seguida da broca tronco-cônica de ponta inativa (n.2082, KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) (Figura 10D) a fim de permitir a introdução da ponteira da micropipeta no interior da câmara pulpar. Foram selecionados dentes de tamanho semelhante, cujo interior da câmara pulpar pudesse armazenar, até o nível da junção amelo-cementária, 100µl de solução. A espessura de esmalte e dentina na região vestibular foi medida com um especímetro (Golgran, São Paulo, Brasil) e variou de 3,5 a 4mm.

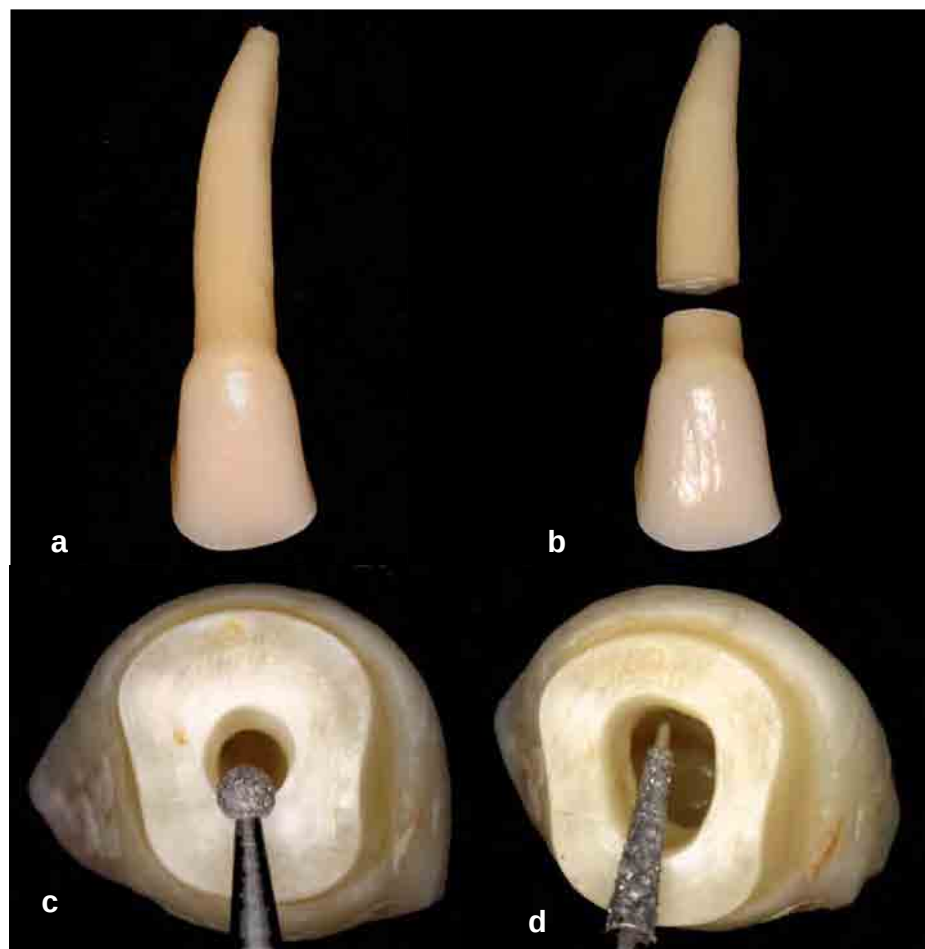


FIGURA 10 – Sequência de preparo dos dentes bovinos: a) incisivo lateral hígido; b) secção da raiz; c) e d) abertura e ampliação da cavidade pulpar após extirpação da polpa.

4.3.4 Preparo das cavidades dos dentes bovinos

Os dentes a serem restaurados foram acoplados a um microscópio modificado para confecção de preparos (FOSJC-UNESP) (Figura 11A). Foram realizados preparos cavitários classe V no terço cervical vestibular, 1mm coronalmente à junção amelo-cementária, utilizando uma broca tipo roda (n.3053, KG Sorensen - KG Sorensen Ind. E Com. Ltda – Barueri-SP) em alta rotação (Figura 11B).

As cavidades preparadas foram padronizadas a 2mm de profundidade, com auxílio de uma sonda milimetrada, e a 4mm de extensão, determinada pelo próprio diâmetro da ponta ativa da broca. As margens de esmalte foram biseladas em 0,5mm, utilizando-se uma broca diamantada de granulação fina tipo ponta de lápis (KG Sorensen n.3195F) acoplada em baixa rotação (Figura 11C). Após o preparo cavitário a espessura remanescente de dentina variou de 1,5 a 2mm, já que a profundidade dos preparos foi padronizada em 2mm.

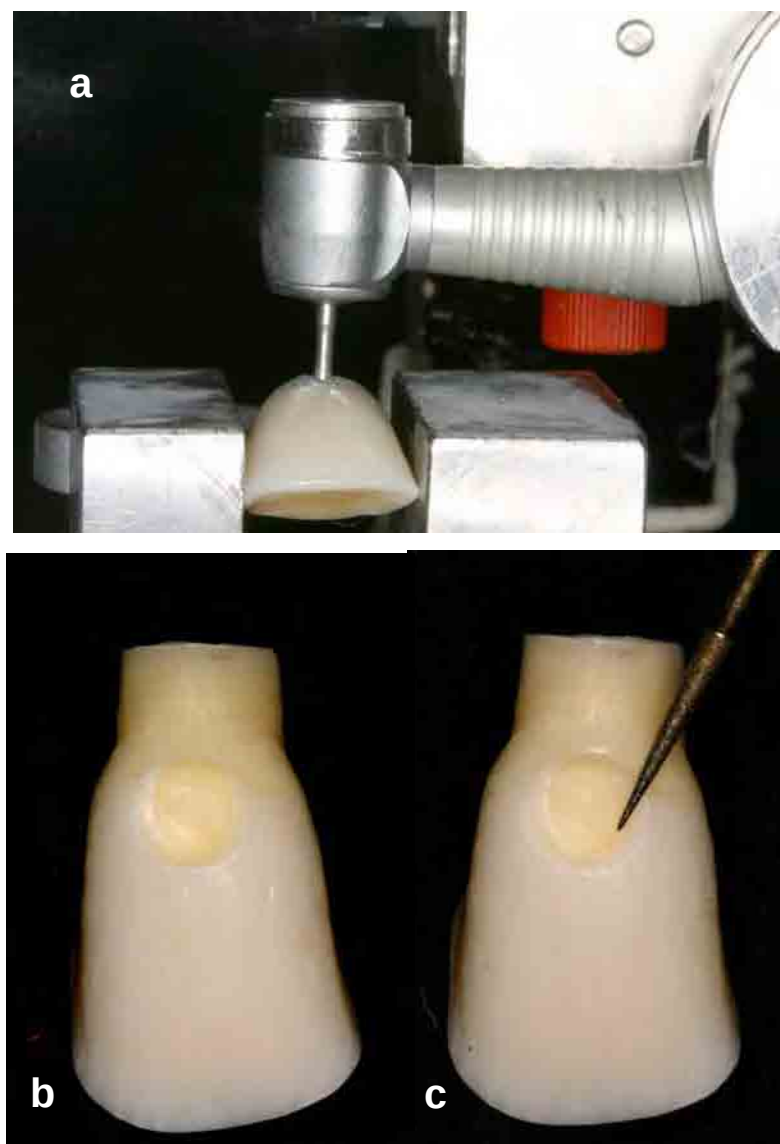


FIGURA 11 – Preparo das cavidades dos dentes bovinos: a) microscópio modificado para preparo da cavidade classe V; b) preparo cavitário; c) confecção do bisel.

4.4 Divisão dos grupos

Os dentes humanos (Grupo A) e bovinos (Grupo B) foram subdivididos em subgrupos de acordo com a presença ou não de restauração e do material restaurador a ser empregado (Figura 19):

a) **Grupo A** (setenta terceiros molares humanos):

- Subgrupo A1 (14 terceiros molares humanos): dentes restaurados com resina composta (RC) (Esthetic-X, Dentsply)
- Subgrupo A2 (14 terceiros molares humanos): dentes restaurados com cimento ionômero de vidro convencional (CIV) (Vidrion R, SSWhite)
- Subgrupo A3 (14 terceiros molares humanos): dentes restaurados com cimento ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) (Vitremer, 3M)
- Subgrupo A4 (14 terceiros molares humanos): os dentes não foram restaurados (SR).
- Subgrupo A5 (14 terceiros molares humanos): grupo controle

b) **Grupo B** (setenta incisivos laterais bovinos):

- Subgrupo B1 (14 incisivos laterais bovinos): dentes restaurados com resina composta (RC) (Esthetic-X, Dentsply)
- Subgrupo B2 (14 incisivos laterais bovinos): dentes restaurados com cimento ionômero de vidro (CIV) convencional (Vidrion R, SSWhite)
- Subgrupo B3 (14 incisivos laterais bovinos): dentes restaurados com cimento ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) (Vitremer, 3M)
- Subgrupo B4 (14 incisivos laterais bovinos): os dentes não foram restaurados (SR).
- Subgrupo B5 (14 incisivos laterais bovinos): grupo controle.

4.5 Restauração dos dentes

4.5.1 Restaurações com resina composta

Inicialmente, os preparos foram lavados durante 20 segundos e secos com jatos de ar durante 15 segundos. Em seguida, realizou-se o condicionamento com ácido fosfórico 37% (Alpha Etch Gel- DFL) durante 30 segundos em esmalte e 15 segundos em dentina. Os dentes foram então lavados novamente durante 20 segundos e secos utilizando-se papel absorvente para que não houvesse desidratação da dentina.

Após a secagem com papel absorvente, aplicou-se o agente adesivo (Single Bond Adhesive – 3M), que foi fotopolimerizado durante 20

segundos utilizando-se um aparelho de luz halógena (Curing Light XL3000 – 3M).

Incrementos de 1mm de resina composta micro-híbrida (Esthetic-X, Dentsply) (Figura 12), cor A2, foram inseridos em duas camadas. Cada incremento foi fotopolimerizado durante 40 segundos, empregando o mesmo aparelho citado anteriormente.

Os dentes foram então armazenados em água deionizada durante 24 horas, a 37°C em estufa bacteriológica. Em seguida procedeu-se o acabamento e polimento das restaurações, através da remoção inicial dos excessos grosseiros com uma lâmina de bisturi n.15 e, posteriormente, empregando discos de lixa seqüenciais (Sof-Lex, 3M) acoplados a um mandril em baixa rotação (Figuras 13 e 14).



FIGURA 12 – Resina composta Esthetic-X, Dentsply

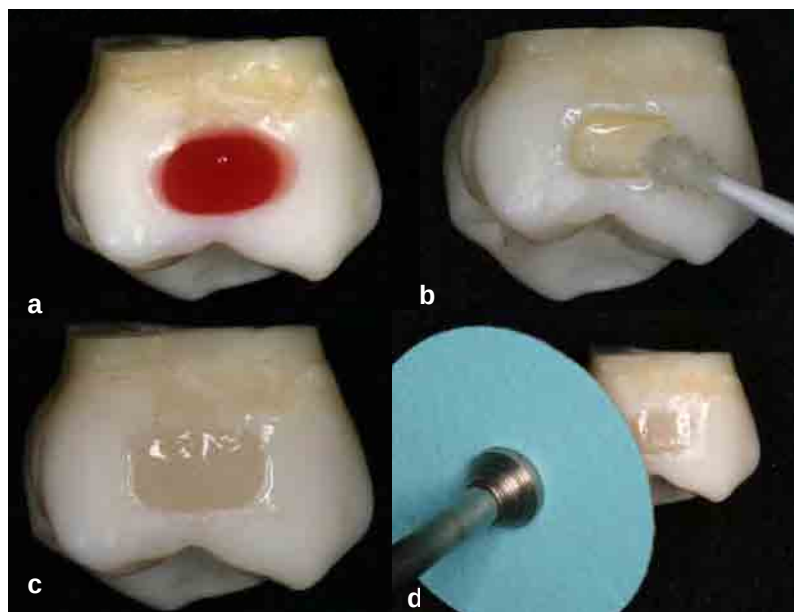


FIGURA 13 – Restauração dos dentes humanos com resina composta: a) condicionamento ácido; b) aplicação do sistema adesivo; c) restauração concluída; d) acabamento e polimento.

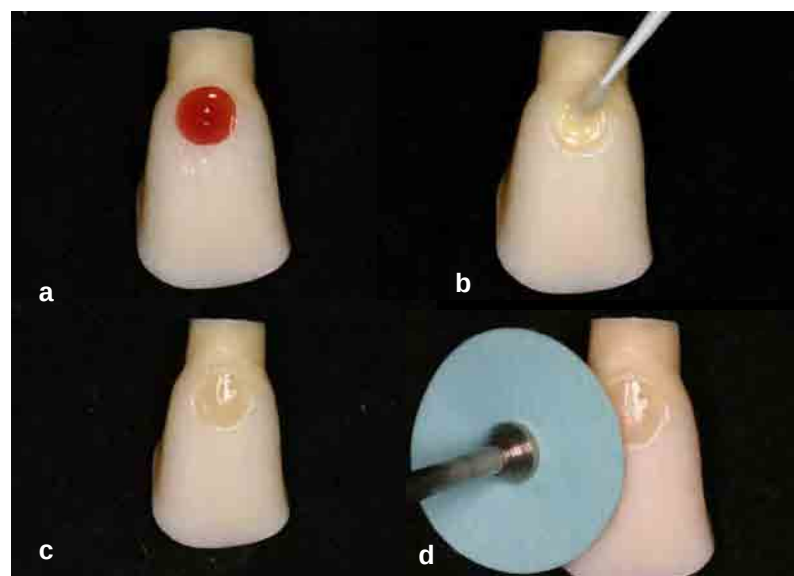


FIGURA 14 – Restauração dos dentes bovinos com resina composta: a) condicionamento ácido; b) aplicação do sistema adesivo; c) restauração concluída; d) acabamento e polimento.

4.5.2 Restaurações com cimento ionômero de vidro convencional

Inicialmente, os preparos foram lavados durante 20 segundos e secos com jatos de ar durante 15 segundos. Em seguida, realizou-se a colocação de uma medida de pó e uma gota do líquido do cimento de ionômero de vidro convencional (Vidrion R- SSWhite) (Figura 15) sobre um bloco de papel e espatulação até a obtenção de uma massa homogênea e brilhante. Após a espatulação, o cimento de ionômero de vidro convencional foi levado à cavidade com o auxílio de uma Seringa Centrix, o que promove a não-inclusão de bolhas, melhorando a adaptação do material.

Foi realizada a proteção superficial com a aplicação do esmalte de unha incolor para que o material não sofresse perda ou ganho de água durante o seu armazenamento em água deionizada durante 24 horas, a 37°C em estufa bacteriológica.



FIGURA 15– Cimento ionômero de vidro convencional (Vidrion R- SSWhite)

4.5.3 Restaurações com cimento ionômero de vidro modificado por resina

Inicialmente, os preparos foram lavados durante 20 segundos e secos com jatos de ar durante 15 segundos. O primer foi aplicado, fotopolimerizado por 20 segundos, a inserção do cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer, 3M) (Figura 16) foi realizada com uma Seringa Centrix e fotopolimerizado por 40 segundos. Depois do preenchimento completo da cavidade foi aplicado o *finishing gloss* e fotopolimerizado por mais 20 segundos.

Os dentes foram então armazenados em água deionizada durante 24 horas, a 37°C em estufa bacteriológica.



FIGURA 16 – Cimento ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer, 3M)

4.6 Aplicação do agente clareador

Os dentes foram isolados pela aplicação de duas camadas de esmalte para unhas, exceto uma área delimitada a qual permaneceu exposta (Figuras 17A e 17 C). A padronização da área exposta ao agente clareador foi possível a partir da colagem de adesivos auto-colantes. Os adesivos foram posicionados em todos os espécimes a 1mm coronalmente à junção amelo-cementária para garantir uma superfície livre de esmalte. Nos dentes restaurados, a área exposta correspondia à 1mm além dos limites da restauração.

Em seguida os dentes foram submetidos ao tratamento clareador com peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Xtra Boost, Ultradent) (Figuras 17B, 17D e 18).

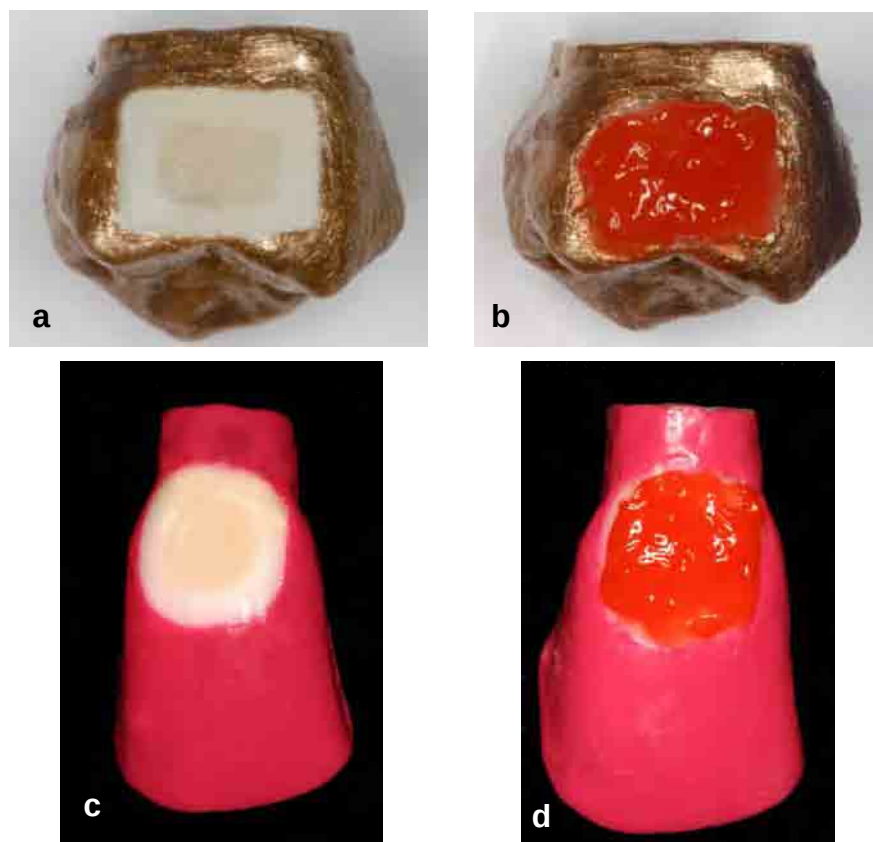


FIGURA 17 – Dentes humanos: a) área padronizada com esmalte para unhas; b) aplicação do agente clareador; Dentes bovinos: c) área padronizada com esmalte para unhas; d) aplicação do agente clareador



FIGURA 18 – Peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Xtra Boost, Ultradent)

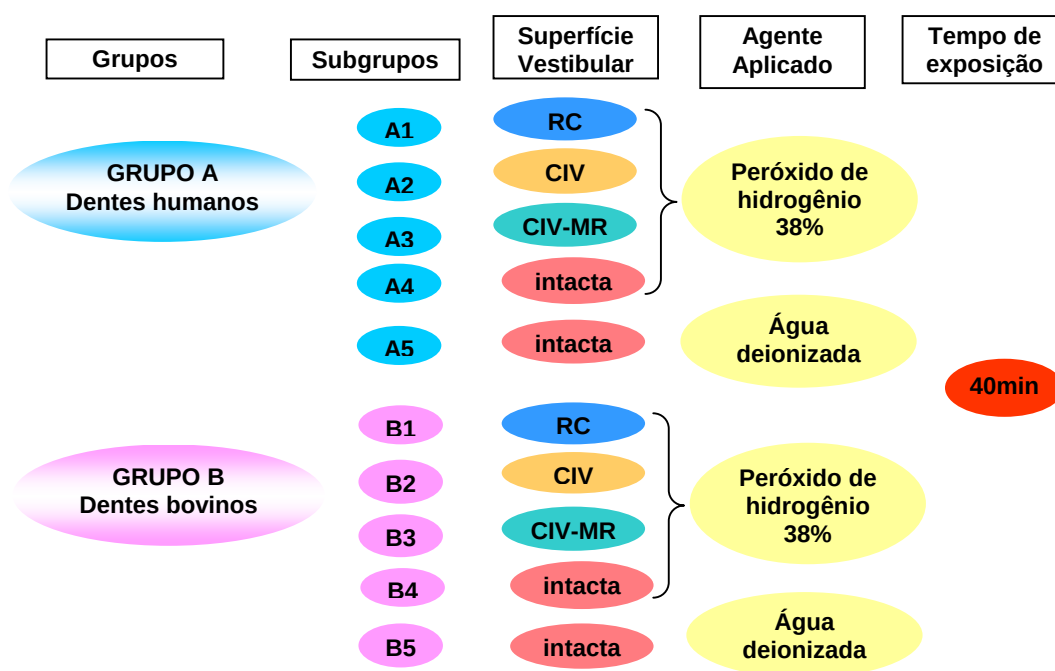


FIGURA 19 - Divisão dos grupos e respectivos tratamentos

Para a aplicação do agente clareador (grupos experimentais) ou água deionizada (grupos controle), o interior da câmara pulpar foi aspirado utilizando-se uma cânula de aspiração. Imediatamente, 100µl e 50µl de solução tampão acetato (pH 4,5) foram introduzidos com uma micropipeta (Gilson 20-100µl) no interior da câmara pulpar dos dentes bovinos e humanos, respectivamente (Figura 20). A solução tampão foi necessária para estabilizar o peróxido de hidrogênio caso houvesse penetração para o interior da câmara pulpar, uma vez que esta substância é bastante instável e se dissocia com facilidade. Dessa forma, mantém-se o oxigênio dissolvido por mais tempo na solução até o momento da reação de quantificação do peróxido de hidrogênio.

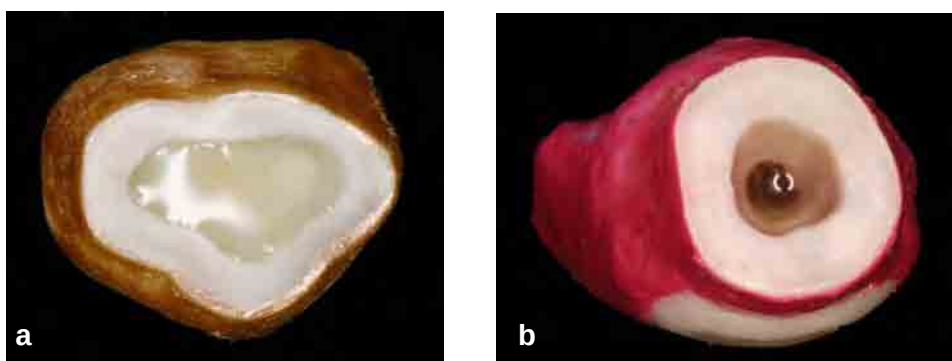


FIGURA 20 – a) Solução tampão na câmara pulpar do dente humano; b) Solução tampão na câmara pulpar do dente bovino

Uma vez preenchidos de solução tampão, os dentes foram fixados verticalmente a uma placa de cera utilidade para facilitar a aplicação do agente clareador. Nos subgrupos A5 e B5, os dentes, fixados na lâmina de cera, foram imersos em um recipiente contendo água deionizada até cobrir a porção coronária dos mesmos. Para o tratamento clareador, nos subgrupos restantes (A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4) aplicou-se o gel peróxido de hidrogênio 38% (Opalescence Xtra Boost, Ultradent).

O tempo de exposição ao agente clareador foi de 40 minutos. Após este período, a solução tampão foi removida do interior de cada câmara pulpar com auxílio de uma microseringa de 100 μ l (Terumo Micro Syringe MS-100). No caso dos dentes bovinos a solução tampão de 100 μ l foi transferida para um tubo de ensaio contendo 2550 μ l de água deionizada designado para cada espécime. O interior da câmara pulpar foi enxaguado duas vezes, utilizando-se 100 μ l de água deionizada em cada enxágüe, que também foi transferido para o interior do mesmo tubo. No caso dos dentes humanos a solução tampão da câmara pulpar de 50 μ l foi transferida para um tubo de ensaio contendo 2650 μ l de água deionizada e

50µl de solução tampão de acetato designado para cada espécime. O interior da câmara pulpar foi enxaguado duas vezes, utilizando-se 50µl de água deionizada em cada enxágüe, que também foi transferido para o interior do mesmo tubo.

Além disso, em cada tubo de ensaio foram acrescentados 100µl da solução de corante violeta leucocristal (leuco crystal Violet 219215 – Aldrich, Estados Unidos), indicador da reação, e 50µl da solução de peroxidase (peroxidase from horseradish P6782 – Sigma, Estados Unidos), catalisadora da reação, desenvolvendo uma solução de cor azul, cuja densidade óptica foi mensurada em espectrofotômetro.

A quantidade de substâncias colocadas nos tubos de ensaio dos dentes bovinos e humanos pode ser melhor entendida no Quadro 4.

Quadro 4 – Quantidades de substância colocadas nos tubos de ensaio

	Dentes Bovinos	Dentes Humanos
Água deionizada	2550µl	2650µl
Solução tampão (câmara pulpar)	100µl	50µl
Dois Enxágües	100µl (cada enxágüe)	50µl (cada enxágüe)
Solução tampão de acetato	--	50µl
Corante violeta leucocristal	100µl	100µl
Peroxidase	50µl	50µl

O tampão acetato presente no interior da câmara pulpar estabilizou o peróxido de hidrogênio que penetrou. O peróxido de hidrogênio, quando em contato com a peroxidase, produziu água e oxigênio nascente, que é um intermediário instável. O oxigênio nascente se combinou formando gás oxigênio, que reagiu com o corante violeta leucocristal provocando a modificação da cor da solução, como pode ser observado na Figura 21.

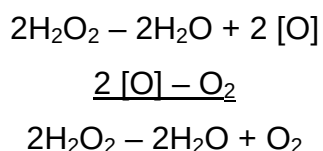


FIGURA 21 - Etapas da decomposição do peróxido de hidrogênio

4.7 Mensuração da absorbância

Os tubos de ensaio correspondentes a cada espécime foram agitados no intuito de homogenizar a solução e obter a reação completa (Figuras 22A e 22B).

A cubeta contendo a solução resultante da reação correspondente a cada espécime (Figuras 23A e 23B) foi inserida no espectrofotômetro calibrado no comprimento de onda de 596nm. Os valores de densidade óptica das soluções foram registrados e posteriormente convertido em microgramas (µg) de peróxido de hidrogênio.

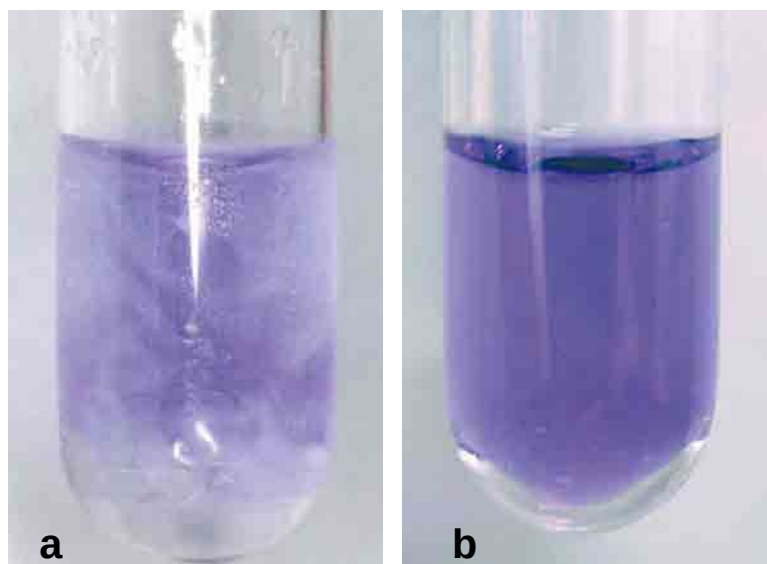


FIGURA 22 – a) homogeneização da solução; b) reação completa no tubo de ensaio.

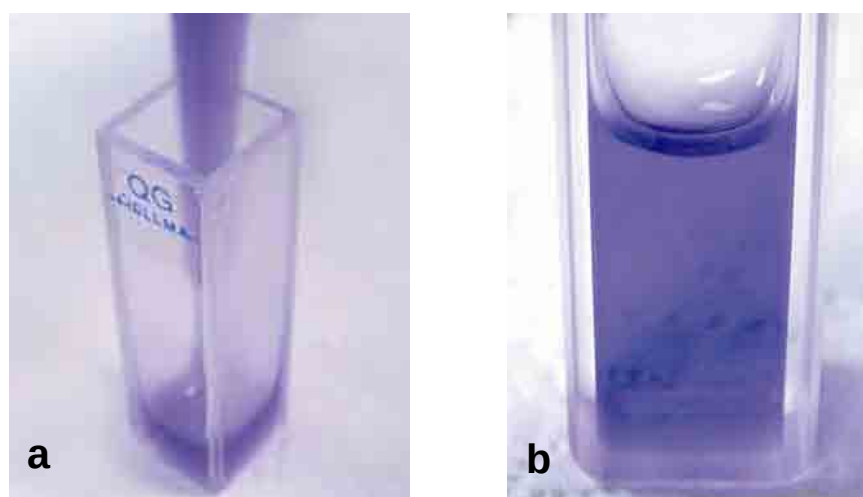


FIGURA 23 – a) colocação da solução resultante na cubeta; b) cubeta contendo a solução resultante da reação.

4.7.1 Quantificação do peróxido no interior da câmara pulpar

A concentração de peróxido contida em cada situação experimental foi calculada multiplicando-se o valor da absorbância do espécime menos o branco, pelo fator de calibração, obtido a partir da curva padrão de peróxido de hidrogênio, conforme está demonstrado na fórmula (Figura 24).

[amostra] = absorbância do espécime (-branco) x fator de calibração (Fc)

Sendo Fc = 1,36 e branco = 0,105.

FIGURA 24 - Fórmula utilizada para se calcular a concentração de peróxido de hidrogênio contida em cada amostra experimental.

4.8 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada em três etapas:

- a) na primeira etapa foram efetuados os testes de Dunnett (Sigma Stat for Windows Version 2.03 1997 SPSS Inc.) e de Kruskal-Wallis, mediante o qual foi estabelecida uma comparação entre o grupo controle frente aos demais grupos experimentais;
- b) na segunda etapa compararam-se as condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: tipo de dente (humano ou bovino) e material restaurador (sem restauração, resina composta, cimento ionômero de vidro, cimento ionômero de vidro modificado por resina) mediante os testes de ANOVA e Tukey (5%);
- c) na terceira etapa compararam-se as condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: material restaurador (sem restauração, resina composta, cimento ionômero de vidro, cimento ionômero de vidro modificado por resina) e dente, sendo realizadas duas análises separadas, uma para dentes bovinos e outra para dentes humanos. Neste caso utilizou-se o teste de Tukey (5%).

5 RESULTADOS

Os dados quantitativos da penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de cada espécime estão apresentados nos Quadros 5 e 6.

Quadro 5 – Dados quantitativos de penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de dentes bovinos (µg/ml)

DENTES BOVINOS				
CIV	RESINA	CIV-MR	Sem Restauração	Controle
0,248	0,228	0,213	0,455	0,312
0,235	0,189	1,054	0,238	0,232
0,205	0,299	0,291	0,344	0,159
0,236	0,251	0,769	0,416	0,214
0,371	0,210	1,825	0,129	0,280
0,212	0,216	1,927	0,258	0,280
0,212	0,231	0,529	0,220	0,210
0,254	0,554	1,610	0,315	0,204
0,409	0,183	0,308	0,164	0,247
1,614	0,300	0,278	0,920	0,199
0,274	0,238	1,055	0,172	0,216
0,246	0,694	0,323	0,186	0,239
0,270	0,199	0,316	0,220	0,201
0,647	0,208	0,565	0,190	0,214
0,338	0,286	0,790	0,302	0,229

Quadro 6 – Dados quantitativos de penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de dentes humanos (µg/ml)

DENTES HUMANOS				
CIV	RESINA	CIV-MR	Sem Restauração	Controle
2,419	0,524	1,154	1,758	0,127
2,613	1,910	2,071	1,829	0,205
2,770	2,834	2,193	2,341	0,179
2,136	2,801	2,118	2,299	0,160
2,201	2,278	2,662	1,936	0,155
2,152	1,510	1,753	1,993	0,138
2,328	1,848	2,598	2,386	0,233
1,448	0,584	2,414	2,375	0,130
2,528	0,450	2,435	2,044	0,129
2,671	1,230	2,562	2,095	0,089
1,595	0,667	2,332	2,477	0,168
0,851	0,503	2,328	2,375	0,126
0,900	2,528	2,751	2,102	0,095
2,080	2,598	2,528	2,132	0,111
2,049	1,590	2,278	2,156	0,146

5.1 Comparação entre o grupo controle e os grupos experimentais

5.1.1 Dentes bovinos

A estatística descritiva dos dados do grupo dos dentes bovinos está expressa de forma gráfica através do diagrama *Box-Plot* (Figura 25) onde visualizam-se os valores mínimo, máximo, mediana e 25^o - 75^o percentil obtidos a partir do teste de Kruskal-Wallis (Teste não paramétrico) (Tabela 1).

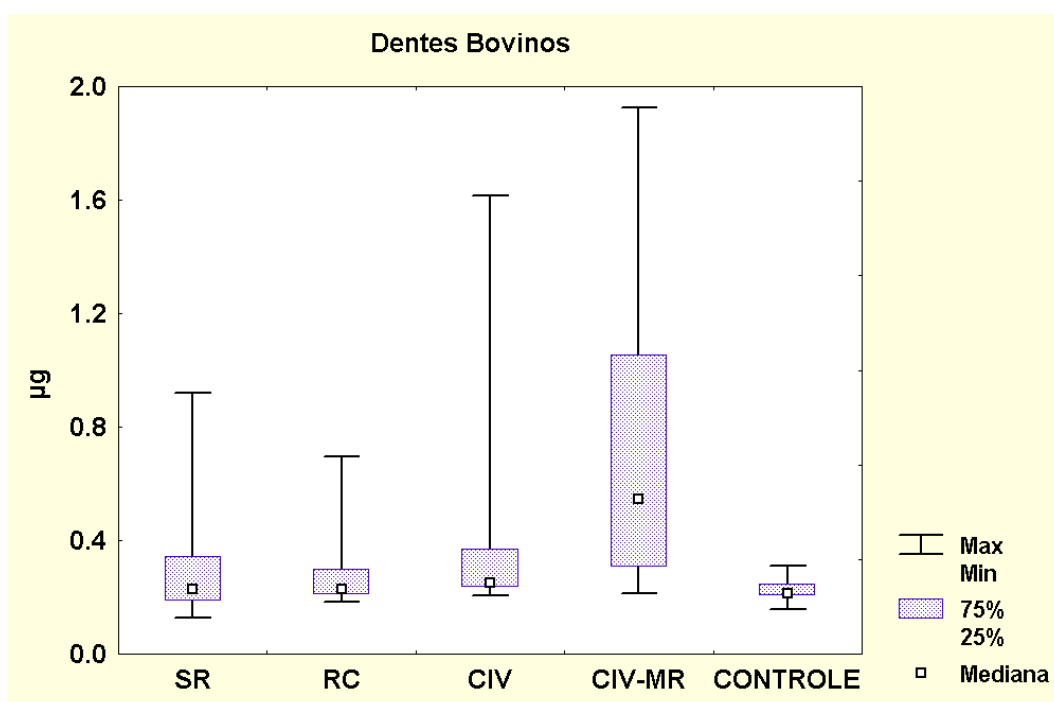


FIGURA 25 - Esquema *Box-plot* dos dados de penetração de peróxido de hidrogênio obtidos para as diferentes condições experimentais dos dentes bovinos (SR- sem restauração; RC- resina composta, CIV- cimento ionômero de vidro, CIV-MR- cimento ionômero de vidro modificado por resina).

Tabela 1- Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para dentes bovinos

Grupos	n	Mediana	25%	75%
B4 (sem restauração)	14	0229	0,186	0,344
B1 (RC)	14	0,230	0,208	0,299
B2 (CIV)	14	0,251	0,235	0,371
B3 (CIV-MR)	14	0,547	0,308	1,055
B5 (Controle)	14	0,215	0,204	0,247

H = 19.845 com 4 graus de liberdade. (P = 0.001)

Verificou-se pelo teste de Kruskal-Wallis que houve diferença significativa nos valores medianos entre os grupos experimentais e o controle (Tabela 1). Para isolar o grupo ou grupos que apresentaram valores medianos maiores, utilizou-se o Teste de Dunnett (teste de comparação múltipla) constatando-se que há diferença estatisticamente significativa entre os grupos B5 (controle) e B3 (CIV-MR) (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados do Teste de Dunnett para dentes bovinos

Comparação	Diferença de posição média	Estatística do teste	P<0.05
B3(CIV-MR) vs B5(Controle)	429,500	3,988	Sim
B2(CIV) vs B5(Controle)	188,500	1,750	Não
B4(SR) vs B5(Controle)	76,000	0,706	Não
B1(RC) vs B5(Controle)	63,500	0,590	Não

5.1.2 Dentes humanos

A estatística descritiva dos dados do grupo dos dentes humanos está expressa de forma gráfica através do diagrama *Box-Plot* (Figura 26) onde visualizam-se os valores mínimo, máximo, mediana e 25^o - 75^o percentil obtidos a partir do teste de Kruskal-Wallis (Teste não paramétrico) (Tabela 3).

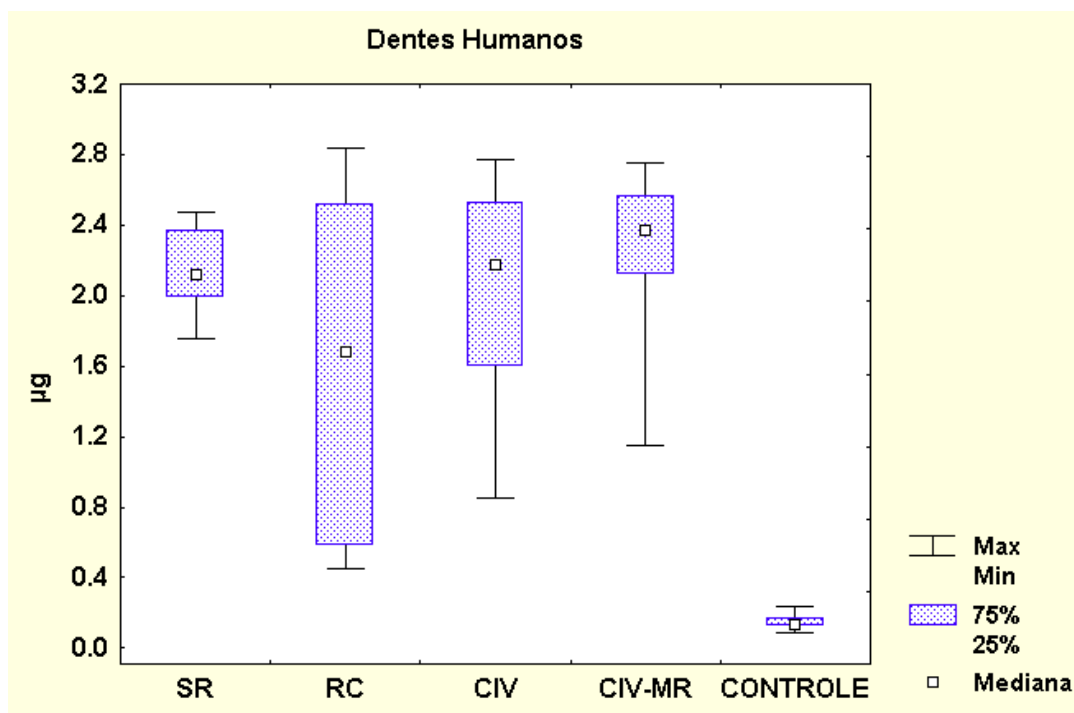


FIGURA 26 - Esquema *Box-plot* dos dados de penetração de peróxido de hidrogênio obtidos para as diferentes condições experimentais dos dentes humanos (SR- sem restauração; RC- resina composta, CIV- cimento ionômero de vidro, CIV-MR- cimento ionômero de vidro modificado por resina).

Tabela 3 – Resultados do Teste de Kruskal-Wallis para dentes humanos

Grupos	n	Mediana	25%	75%
A4 (sem restauração)	14	2,177	1,993	2,375
A1 (RC)	14	1,679	0,584	2,523
A2 (CIV)	14	2,176	1,595	2,528
A3 (CIV-MR)	14	2,373	2,118	2,562
A5(Controle)	14	0,134	0,126	0,168

H = 36.312 com 4 graus de liberdade. (P = 0.001)

Verificou-se pelo teste de Kruskal-Wallis que houve diferenças significantes nos valores medianos entre os grupos experimentais e o controle (Tabela 3). Para isolar o grupo ou grupos que apresentaram valores medianos maiores, utilizou-se o Teste de Dunnett (teste de comparação múltipla) constatando-se que há diferença estatisticamente

significante entre o grupo A5 (controle) e os grupos experimentais (grupos A1, A2, A3 e A4) (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados do Teste de Dunnett para dentes humanos

Comparação	Diferença de posição média	Estatística do teste	P<0.05
A3(CIV-MR) vs A5(Controle)	582,500	5,409	Sim
A2(CIV) vs A5(Controle)	509,000	4,727	Sim
A4(SR) vs A5(Controle)	475,000	4,411	Sim
A1(RC) vs A5(Controle)	393,500	3,654	Sim

5.2 Comparação entre os tipos de dentes e material restaurador

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) à dois critérios (material restaurador e tipo de dente), estando seus resultados apresentados na Figura 27 e na Tabela 5. Pode-se verificar que houve maior valor de penetração de peróxido de hidrogênio nos dentes humanos em relação aos dentes bovinos para qualquer situação experimental (Figura 27).

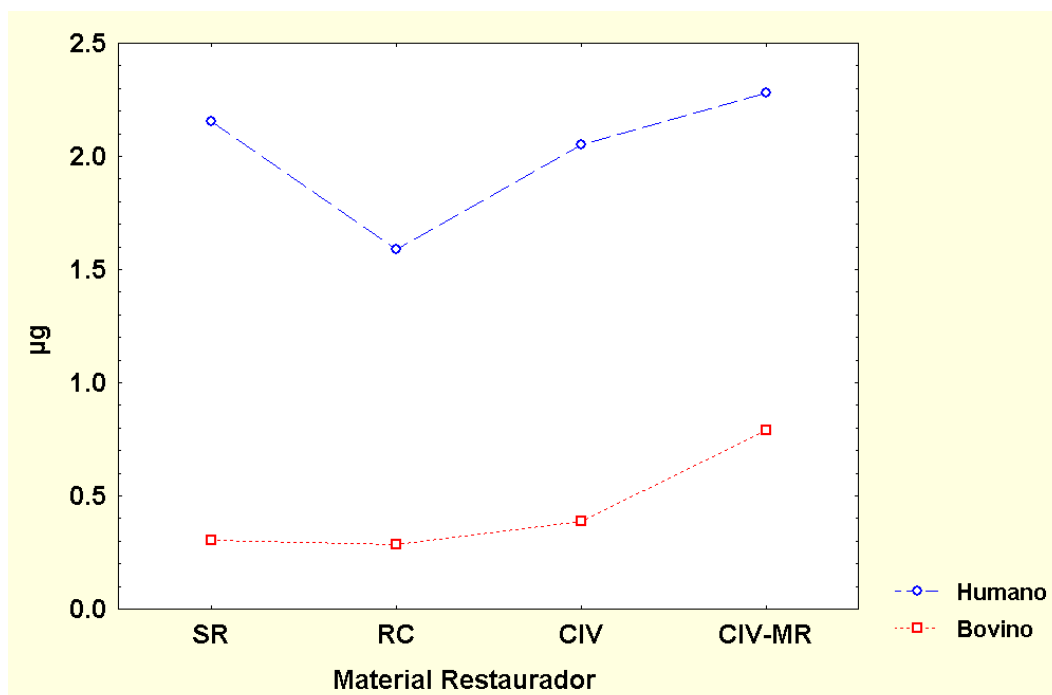


FIGURA 27 - Gráfico das médias de peróxido de hidrogênio obtido para as oito condições experimentais SR- sem restauração; RC- resina composta, CIV- cimento ionômero de vidro, CIV-MR- cimento ionômero de vidro modificado por resina).

Tabela 5 - Resultados do teste estatístico da análise de variância (ANOVA) efetuado para os dados quantitativos

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Valor estatístico F	P
Material Restaurador	3	1,3054	0,4351	7,98	0,000*
Dente	1	16,9739	16,9739	311,31	0,000*
Interação	3	0,3379	0,1126	2,07	0,109
Resíduo	104	5,6705	0,0545		
Total	111	24,2876			

*p<0,05

Verificou-se mediante o teste ANOVA (Tabela 5), que o efeito interação não foi significante. Pode-se dizer, portanto, que as diferenças

entre os valores médios de penetração do agente clareador obtidos para os dentes humanos frente aos dentes bovinos, é a mesma em cada tipo de material restaurador. Assim, a superioridade encontrada para o CIV é de $1,66\mu\text{g}$ ($2,05 - 0,39 = 1,66\mu\text{g}$), para o CIV-MR é de $1,48\mu\text{g}$ ($2,27 - 0,79 = 1,48\mu\text{g}$), para o RC é de $1,31\mu\text{g}$ ($1,59 - 0,28 = 1,31\mu\text{g}$) e a superioridade para os dentes sem restauração (SR) é de $1,85\mu\text{g}$ ($2,15 - 0,30 = 1,85\mu\text{g}$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Média ($\pm$ desvio padrão) dos dados de peróxido de hidrogênio obtidos segundo o tipo de dente e de material restaurador

Material restaurador	Dentes		linha ($m \pm dp$)
	Bovinos	Humanos	
CIV	$0,39 \pm 0,37^*$	$2,05 \pm 0,62$	$1,22 \pm 0,98$
CIV-MR	$0,79 \pm 0,61$	$2,27 \pm 0,41$	$1,53 \pm 0,91$
RC	$0,28 \pm 0,15$	$1,59 \pm 0,92$	$0,93 \pm 0,93$
SR (sem restauração)	$0,30 \pm 0,20$	$2,15 \pm 0,22$	$1,22 \pm 0,96$
coluna ($m \pm dp$)	$0,44 \pm 0,42$	$2,01 \pm 0,64$	

* n = 14

O resultado do Teste de Tukey (5%) indicou que houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores de penetração de peróxido de hidrogênio nos dentes bovinos e humanos (Tabela 7). Além disso, entre os grupos experimentais verificou-se que o grupo CIV-MR apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos, mostrando um valor maior de penetração de peróxido de hidrogênio tanto nos dentes bovinos como nos humanos (Tabela 8).

Tabela 7 - Teste de Tukey (5%) para o efeito Dente

Dente	Média (µg)	Grupos Homogêneos*
Bovino	0,44	A
Humano	2,01	B

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente

Tabela 8 - Teste de Tukey (5%) para o efeito Material Restaurador

Materiais	Média (µg)	Grupos Homogêneos*
CIV-MR	1,53	A
CIV	1,21	B
SR	1,22	B
RC	0,93	B

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente

5.3 Comparação entre os grupos experimentais, exceto o controle, para os dentes humanos e para os dentes bovinos

Uma comparação entre as condições experimentais separadamente dos dentes humanos e bovinos foi possível com o teste de Tukey (5%). Neste caso, obtêm-se dois grupos que diferem estatisticamente, o grupo de dentes humanos e o dos bovinos.

Dentro dos dentes bovinos o grupo B3 (CIV-MR) ($0,79 \pm 0,61 \mu\text{g}$) apresentou diferença nos valores de penetração de peróxido de hidrogênio estatisticamente significantes em relação aos grupos B1 (RC) ($0,28 \pm 0,15 \mu\text{g}$) e B4 (SR) ($0,30 \pm 0,20 \mu\text{g}$). Dentro dos dentes humanos, o grupo A3 (CIV-MR) ($2,27 \pm 0,41 \mu\text{g}$) apresentou diferença nos valores de penetração de peróxido de hidrogênio estatisticamente significantes em relação ao grupo A1 (RC) ($1,59 \pm 0,92 \mu\text{g}$) (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultado do teste de Tukey (5%) para os dados quantitativos

Condições experimentais	Média	Grupos Homogêneos*		
B1 (RC bovinos)	0,28	A		
B4 (sem restauração bovinos)	0,30	A		
B2 (CIV bovinos)	0,34	A	B	
B3 (CIV-MR bovinos)	0,79		B	
A1 (RC humanos)	1,59			C
A2 (CIV humanos)	2,05			C D
A4 (sem restauração humanos)	2,15			C D
A3 (CIV-MR humanos)	2,27			D

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente

6 DISCUSSÃO

6.1 Discussão da metodologia

A padronização do peróxido de hidrogênio, que serviu de parâmetro para se obter a curva padrão, pode ser feita através dos métodos da iodometria ou permanganometria. A permanganometria não ofereceu reprodutibilidade dos resultados em experimentos realizados anteriormente no Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP e por isso este método foi descartado. Portanto, o método empregado foi a iodometria devido maior afinidade à técnica e ao fato deste método ser utilizado pelo próprio fabricante do peróxido de hidrogênio (Peróxidos do Brasil Ltda.⁷¹, 1996).

A curva padrão foi obtida para calcular o fator de calibração (Fc), que corresponde à razão entre a concentração da solução padrão de peróxido de hidrogênio e sua respectiva absorbância. No presente estudo, o fator de calibração (Fc) médio obtido foi 1,36.

Existem vários métodos para se quantificar o peróxido de hidrogênio em espectrofotômetro, como a oxidação de íons metálicos, oxidação do íon iodo, oxidação de compostos orgânicos ou pela produção de fluorescência. No entanto, nestes métodos a sensibilidade está restrita a soluções contendo mais que 10^{-5} M de peróxido de hidrogênio (MOTTOLA et al.⁶¹, 1970).

O método adotado neste estudo para a quantificação do peróxido de hidrogênio foi aquele preconizado por Mottola et al.⁶¹ (1970) por se tratar de um método preciso, conveniente, seletivo e de alta

precisão. Baseia-se na formação do cristal violeta, a partir de sua base leuco, processo que é catalisado pela enzima peroxidase extraída do rábano silvestre. Devido à elevada absorbância em molaridade do cristal violeta, torna-se possível aplicar o método descrito mesmo para quantidades muito pequenas de peróxido de hidrogênio, na casa de submicrogramas (ADIBFAR et al.¹, 1992). A peroxidase permite uma reação rápida mesmo em baixas concentrações e também possui boa seletividade. Além disso, ocorre uma mudança de cor da solução, como resultado da reação de oxidação, que permite a leitura no espectrofotômetro e demonstra a presença do peróxido de hidrogênio (GOKAY et al.³³, 2004).

O comprimento de onda de 596nm do espectrofotômetro foi estabelecido por Mottola et al.⁶¹ (1970) a partir de medições repetidas das soluções padronizadas, variando-se o comprimento de onda. Os resultados obtidos foram inseridos em uma curva, onde os autores verificaram que em 596nm ocorreu máxima absorbância.

Portanto, a partir da reação do cristal violeta e da leitura em espectrofotômetro foi possível verificar a quantidade de peróxido de hidrogênio que penetrou no interior câmara pulpar em cada situação experimental.

No artigo original de Mottola et al.⁶¹ (1970) verifica-se que os desvios padrões dos valores médios de absorbância foram inferiores a 2%, o que confirma a precisão do método. Por se tratar de um mecanismo extremamente confiável para a quantificação do peróxido de hidrogênio, esta metodologia tem sido reproduzida em outras pesquisas, como Bowles & Ugwuneri¹⁶ (1987), Cooper et al.²⁰ (1992), Hanks et al.⁴⁰ (1993), Thitinthapan et al.⁸⁸ (1999), Gokay et al.³⁴⁻³⁵ (2000), Benetti et al.¹¹ (2004). No presente estudo, o desvio padrão superou a variação observada por Mottola et al.⁶¹ (1970), provavelmente pelos diferentes valores de penetração do peróxido de hidrogênio para o interior dos espécimes devido a utilização de dentes humanos e bovinos.

Atualmente, muitos trabalhos têm empregado a utilização de dentes bovinos devido à dificuldade de obtenção de dentes humanos e também devido às restrições éticas relacionadas à sua utilização (ADIBFAR et al.¹, 1992; KWON et al.⁵², 2002; BENETTI et al.¹¹, 2004). No entanto, a utilização de dentes bovinos não proporciona resultados idênticos aos obtidos em substrato humano.

Neste estudo, os resultados de penetração do peróxido de hidrogênio em dentes bovinos quando comparados aos dados obtidos em dentes humanos, mostraram-se inferiores, provavelmente pelas diferenças existentes na composição dos substratos (RUSE et al.⁷⁹, 1990; RUSE & SMITH⁷⁸, 1991; BANKS⁸, 1992; BONFIM¹³, 2000; MIRANDA et al.⁶⁰, 2001) ou devido à maior espessura de dentina presente nos dentes bovinos. Seale & Wilson⁸¹ (1985), estudando o efeito de agentes clareadores sobre o tecido pulpar de cães e comparando seus resultados a estudos realizados em dentes humanos (COHEN & CHASE¹⁹, 1979; ROBERTSON & MELFI⁷⁵, 1980), relataram que a espessura dentinária pode funcionar como barreira para a penetração de agente clareador para o interior da câmara pulpar.

Estudos histoquímicos e de comparação anatômica revelam que todos os dentes de mamíferos são similares (ATTIN et al.⁶, 1997; RUSE & SMITH⁷⁸, 1991), embora Moriwaki et al.* (1968), citado por Nakamichi et al.⁶² (1983), tenham relatado que o esmalte bovino apresenta grânulos cristalinos e mais defeitos do que o esmalte humano, visto que dentes bovinos se desenvolvem mais rápido tanto antes como após a erupção.

* MORIWAKI, Y. et al. The cristallinity change of bovine enamel during maturation. **J Dent Mat**, v.9, p.78-85, 1968 apud NAKAMICHI, I.; IWAKU, M.; FUSAYAMA, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. **J Dent Res**, v.62, n.10, p.1076-81, Oct. 1983.

Estudos em MEV relatam que ao se comparar os substratos bovino e humano, constata-se que o esmalte bovino apresenta-se ligeiramente mais rugoso. Além disso, verifica-se que existem diferenças na composição da dentina humana e bovina (NAKAMICHI et al.⁶², 1983).

A dentina humana apresenta uma média de diâmetro e número de túbulos dentinários de 1,11 μ m e 15.000mm², respectivamente, na camada superficial e 2,63 μ m e 65.000 mm² na camada mais próxima à polpa (TAKODORO⁸⁷, 1959; citado por NAKAMICHI et al.⁶², 1983). Sendo que, quanto mais próximo da polpa, o diâmetro e o número de túbulos dentinários é maior (NAKAMICHI et al.⁶², 1983).

De acordo com estudo de Bonfim¹³ (2000) em que foi realizado um estudo micromorfológico das dentinas humana e bovina, a dentina bovina apresenta maior número de túbulos dentinários nas proximidades do tecido pulpar e menor número próximo ao limite amelodentinário, como ocorre na dentina humana. Com relação ao diâmetro dos túbulos, a dentina bovina tem maior diâmetro próximo ao limite amelodentinário, sendo que o diâmetro diminui nas proximidades da polpa, ao contrário do que ocorre na dentina humana.

Quanto ao meio de armazenamento, os dentes humanos e bovinos, após a extração, foram congelados em solução salina fisiológica durante três semanas antes da utilização dos dentes. O congelamento é um método seguro, que garante a manutenção da integridade dos tecidos dentários, sendo indicado pela maioria dos autores um período de armazenamento de até quatro semanas (TONAMI & TAKAHASHI⁹², 1997).

Neste estudo, o tratamento restaurador foi realizado com três tipos diferentes de materiais restauradores: resina composta, cimento ionômero de vidro convencional e cimento ionômero de vidro modificado por resina.

A resina composta utilizada foi microhíbrida a qual pode ser utilizada tanto em dentes anteriores como posteriores, em restaurações

classe I, II, III, IV e V. Apesar de sua ampla indicação, as resinas compostas têm sido bastante utilizadas em restaurações classe V (DIBB et al.²⁴, 2001; GOKAY et al.³⁵, 2000). Entretanto, apresentam como desvantagem a contração de polimerização, a qual pode resultar em discrepâncias marginais levando a microinfiltração (TOLEDANO et al.⁹¹, 1999).

O cimento ionômero de vidro convencional e o cimento de ionômero de vidro modificado por resina são materiais alternativos para a realização de restauração classe V, pois apresentam adesividade as estruturas dentais, liberação de flúor, valores de contração de polimerização baixos e estética favorável. O cimento de ionômero de vidro modificado por resina consiste em uma mistura de componentes resinosos fotossensíveis incorporados dentro do cimento de ionômero de vidro convencional para a obtenção de combinação de características da resina composta e do cimento de ionômero de vidro convencional (GOKAY et al.³⁵, 2000). A associação destas características confere ao cimento ionômero de vidro modificado por resina melhores propriedades, minimizando problemas de sensibilidade a umidade e baixa resistência mecânica.

Neste trabalho foi selecionado um agente clareador à base de peróxido de hidrogênio na concentração de 38%. Esse agente clareador apresenta alta viscosidade e potencial de liberação contínua, o que impede a liberação imediata de altas concentrações de peróxido para o interior dos tecidos dentários. A concentração de 38% foi testada com intuito de simular o clareamento realizado em consultório. O tempo de exposição de 40 minutos foi determinado, pois este é um tempo comumente utilizado nos clareamentos de consultório e para avaliar a penetração do peróxido para o interior da câmara pulpar após períodos mais longos de exposição, já que trabalhos publicados anteriormente utilizam tempos de exposição de 15 a 30 minutos (BOWLES &

UGWUNERI¹⁶, 1987; COOPER et al.²⁰, 1992; HANKS et al.⁴⁰, 1993; THITINANTHAPAN et al.⁸⁸,1999; GÖKAY et al., 2000).

6.2 Discussão dos resultados

Atualmente, a Odontologia tem a estética como parte importante da beleza, influenciada pelo contorno, forma, simetria, alinhamento e cor dos dentes. O clareamento dental é um dos procedimentos mais empregados na obtenção da estética do sorriso devido sua relativa facilidade e eficácia, além de ser uma opção conservadora de tratamento (SULIEMAN et al.⁸⁶, 2005).

Apesar do clareamento de dentes com vitalidade pulpar ser uma alternativa de tratamento conservador, existem preocupações quanto à exposição das estruturas dentárias aos agentes clareadores e conseqüente chegada destes à polpa. Verifica-se que manchas intrínsecas presentes no esmalte ou dentina são facilmente removidas pelos agentes clareadores devido à porosidade e permeabilidade inerentes a estas estruturas. Entretanto, os agentes clareadores deveriam apenas penetrar na mancha, de forma rápida e seletiva, sem causar danos aos tecidos dentários (MCEVOY⁵⁹, 1989).

Estudos relatam que, durante o clareamento, o peróxido de hidrogênio pode penetrar através do esmalte e dentina e atingir a polpa (GRIFFIN JUNIOR et al.³⁹, 1977; BOWLES & UGWUNERI¹⁶, 1987; COOPER et al.²⁰, 1992; HANKS et al.⁴⁰, 1993; THITINANTHAPAN et al.⁸⁸, 1999; GOKAY et al.³⁴⁻³⁵, 2000; BENETTI et al.¹¹, 2004). Bowles & Ugwuneri¹⁶ (1987) e Cooper et al.²⁰ (1992) verificaram, em dentes humanos extraídos, valores altos de penetração de peróxido para o interior de amostras tratadas com peróxido de hidrogênio 30%. Já, Thitinthapan et al.⁸⁸ (1999) e Joiner & Thakker⁴⁹ (2004) relatam que o peróxido de carbamida 10% ou 6%, respectivamente, difundiu-se para o interior da câmara pulpar de dentes hígidos em concentrações mais baixas.

A penetração do agente clareador ocorre principalmente devido a seu baixo peso molecular e sua capacidade de desnaturar proteínas, o que aumenta a movimentação de íons através da estrutura dentária (GOLDSTEIN et al.³⁶, 1989; MCEVOY⁵⁹, 1989; NOVAIS & TOLEDO⁶⁴, 1999).

A penetração destes agentes clareadores para o interior da câmara pulpar pode ser explicada também por uma teoria hidrodinâmica. Similar ao que ocorre durante a inflamação pulpar, trocas de fluidos ocorrem através da dentina durante a aplicação de um estímulo que leva a ativação hidrodinâmica de mecanorreceptores da polpa. Assim, muitos procedimentos dentários provavelmente também induzem essa troca de fluidos através da dentina, incluindo tratamentos clareadores. Como a dentina e polpa estão intimamente envolvidas, é provável que os fluidos que atravessam a dentina exposta também cheguem até os vasos do tecido pulpar (PASHLEY⁷⁰, 1992).

Entretanto, os resultados obtidos *in vitro* podem não corresponder à penetração de peróxido de hidrogênio *in vivo* (WAINWRIGHT & LEMOINE⁹⁴, 1950; GRIFFIN JUNIOR et al.³⁹, 1977; ARENDS et al.⁵, 1984; BOWLES & UGWUNERI¹⁶, 1987; COOPER et al.²⁰, 1992; HANKS et al.⁴⁰, 1993; THITINANTHAPAN et al.⁸⁸, 1999; GOKAY et al.³³, 2004; SULIEMAN et al.⁸⁶, 2005). Vongsavan & Matthews⁹³ (1991), analisando a penetração de corantes aplicados na superfície da dentina, obtiveram resultados que sustentam esta hipótese quando observaram que, *in vivo*, a penetração do corante era menor quando comparada à penetração *in vitro*. Segundo os autores, existe um fluxo do interior para a superfície externa de túbulos dentinários expostos, que pode impedir a difusão de substâncias da cavidade bucal para o interior da câmara pulpar.

Sulien et al.⁸⁵ (2004) e Sulien et al.⁸⁶ (2005) relatam que na cavidade bucal, os dentes apresentam um contínuo movimento de fluidos através dos túbulos dentinários e porosidades do esmalte. O uso

de dentes *in vitro*, desprovidos de fluido dentinário, provavelmente permite que o agente clareador penetre no dente mais rapidamente do que nas situações clínicas. Portanto, a quantidade de peróxido de hidrogênio que alcança a polpa viva pode ser menor do que nas condições *in vitro* (GOKAY et al.³³, 2004).

Neste trabalho verificou-se que todos os grupos submetidos ao clareamento com peróxido de hidrogênio 38% apresentaram penetração de peróxido para o interior da cavidade pulpar, tanto nos dentes bovinos como nos dentes humanos. Concordando com vários trabalhos da literatura que mostram que quantidades significantes de peróxido podem se difundir através da dentina após a aplicação de agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio e de carbamida. Hanks et al.⁴⁰ (1993) verificaram que a quantidade de peróxido de hidrogênio que penetrou através da dentina foi dependente da concentração do agente clareador e do tempo de aplicação destes agentes sobre a superfície do esmalte.

O sucesso do clareamento está diretamente relacionado a capacidade dos agentes clareadores penetrarem no esmalte e dentina. No entanto, verifica-se clinicamente que após o clareamento ocorre sensibilidade dentária que é o maior efeito colateral observado durante estes procedimentos (PAPATHANASIOU et al.⁶⁸, 2001; GOKAY et al.³³, 2004).

Machado & Frasca⁵⁶ (1994) e Hirata et al.⁴⁷ (1997) acreditam que a sensibilidade causada pelos agentes clareadores é explicada pelo baixo peso molecular e livre difusão do peróxido pelo esmalte e dentina, porém é transitória. Gómez et al.³⁸ (1999) compararam o peróxido de carbamida 10% aplicado durante dez dias e o peróxido de hidrogênio 35% aplicado por 30 minutos e verificaram que o peróxido de hidrogênio 35% promoveu uma sensibilidade significantemente maior quando comparado ao peróxido de carbamida. Entretanto, a sensibilidade foi transitória, sendo observada apenas nas primeiras 24 horas.

Nathanson⁶³ (1997) relata que o clareamento de consultório produz sensibilidade mais pronunciada que o clareamento caseiro, entretanto esta cessa após 24 a 48 horas do tratamento. E, Gallagher et al.³¹ (2002) relataram que os pacientes apresentaram sensibilidade transitória após tratamento clareador por sete dias com peróxido de hidrogênio 25% e peróxido de hidrogênio 38%.

Li⁵⁵ (1998) avaliando a sensibilidade dentária pós clareamento verificou que mais da metade dos pacientes experimentou sensibilidade moderada e severa, e alguns pacientes necessitaram fazer uso de analgésicos. Também Goldstein & Gaber³⁷ (1995) afirma que os pacientes podem experimentar um incômodo pós-tratamento, entretanto cessa após as primeiras 24 horas e pode ser aliviada com analgésicos.

Neste trabalho verificou-se que nos dentes bovinos a penetração de peróxidos para o interior da cavidade pulpar foi menor do que nos dentes humanos que apresentaram penetração de peróxido significativamente maior. Esta maior penetração nos dentes humanos pode ser explicada pela menor espessura dentinária existente nestes dentes.

De acordo com Gómez et al.³⁸ (1999) a quantidade de agente clareador que penetra através da estrutura dentária é influenciada pela espessura do esmalte e dentina e pela concentração do gel clareador. Estes autores verificaram aumento da permeabilidade dentinária quando agentes clareadores são utilizados sobre a dentina e relataram ainda que o grau de resposta pulpar está associado a espessura da dentina. Nathanson⁶³ (1997) acredita que quanto maior espessura de dentina, melhor a proteção da polpa frente aos agentes clareadores. Além disto, o autor verificou que em dentes humanos esta espessura é de aproximadamente 3,8mm.

Neste estudo, tomou-se o cuidado de medir a espessura de esmalte e dentina e a área de superfície em contato com o gel clareador. A espessura da dentina não pode ser mensurada precisamente,

entretanto, os dentes escolhidos tiveram tamanhos similares. Além disso, a broca utilizada foi a mesma para a abertura da câmara pulpar, sem que houvesse qualquer tipo de desgaste na superfície interna da face vestibular.

Neste estudo, a maior penetração de peróxido verificada nos dentes humanos, além da espessura dentinária, pode ser devido as diferenças na morfologia destes dentes. Bonfim¹³ (2000) observaram que, quando se utilizam dentes bovinos simulando procedimentos de hibridização dentinária na região próxima à polpa, há menor permeabilidade devido ao menor diâmetro dos túbulos dentinários e maior área de dentina intertubular, ao contrário do que ocorre na dentina humana. Miranda et al.⁶⁰ (2001) relatam que a dentina superficial e profunda humana apresentam, em relação à dentina bovina, maior densidade tubular, menor diâmetro tubular e o mesmo percentual de dentina intertubular.

Outro fator que pode influenciar as diferenças de penetração de peróxido nos dentes humanos e bovinos pode ser as alterações que o agente clareador pode promover na estrutura dentária, que podem ser diferentes, nos dentes bovinos e humanos. Cálcio e fosfato estão presentes na composição da hidroxiapatita e qualquer mudança na quantidade destes íons leva a alterações nos componentes inorgânicos dos tecidos dentários (McCracken & Haywood⁵⁸, 1996). Rotstein et al.⁷⁷ (1996) e Kawamoto & Tsujimoto⁵⁰ (2004) verificaram que o clareamento com peróxido de hidrogênio pode provocar alterações na composição química do dente, reduzindo a proporção de cálcio e fosfato no esmalte e dentina. É possível que estas alterações sejam diferentes na dentina humana e bovina.

Ainda a penetração de peróxido em todos os dentes submetidos ao tratamento clareador no presente estudo pode ser explicada pelas mudanças significantes na superfície do esmalte incluindo aumento da porosidade, perda da uniformidade e alterações morfológicas

devido a ação dos agentes clareadores (BITTER¹², 1998; HEGEDÜS et al.⁴⁵, 1999; BENETTI et al.¹¹, 2004; SULIEMAN et al.⁸⁴, 2004). O esmalte possui 0,6% de conteúdo orgânico por peso em sua composição e o peróxido de hidrogênio, devido seu baixo peso molecular, penetra através do esmalte, principalmente ao longo das proteínas presentes na parte orgânica, pois a parte inorgânica é muito compacta, permitindo pequenas penetrações através dos cristais de hidroxiapatita (HEGEDÜS et al.⁴⁵, 1999). A ação do agente clareador pode promover aumento da porosidade do esmalte, devido ao rompimento das proteínas da matriz do esmalte com conseqüente perda de materiais desta matriz pela oxidação de radicais livres (HANKS et al.⁴⁰, 1993; KWON et al.⁵², 2002). Assim, os efeitos oxidativos ocorrem provavelmente na subsuperfície do esmalte onde está presente o material orgânico e essa oxidação é capaz de alterar a superfície do esmalte.

Bitter¹² (1998) avaliando o efeito do peróxido de carbamida 16% e 35%, verificou perda da camada aprismática, exposição e desmineralização dos prismas de esmalte e indução de fissuras. Benetti et al.¹¹ (2004) confirmaram através de MEV os resultados observados por Bitter¹² (1998), constatando o efeito erosivo do peróxido de carbamida 10% e 35% sobre o esmalte, resultando em rugosidade superficial. Novais & Toledo⁶⁴ (1999) relataram que após seis semanas de tratamento com peróxido de carbamida 10%, o esmalte exibiu aspectos morfológicos atípicos e sugestivos de alterações estruturais.

Hegedüs et al.⁴⁵ (1999) verificaram através de observação em microscópio de força atômica, que após a aplicação de dois tipos de agentes clareadores caseiros (peróxido de carbamida 10%) e um de consultório (peróxido de hidrogênio 30%) houve aumento da porosidade na superfície do esmalte. Entretanto, observou-se que os poros criados na superfície do esmalte pelo peróxido de hidrogênio 30% foram mais profundos do que os provocados pelos agentes menos concentrados. Kwon et al.⁵² (2002) verificaram que o esmalte bovino clareado com

peróxido de hidrogênio 30%, mostrou-se irregular com leves alterações morfológicas, como perda de cristais e aumento de poros.

Já, Spalding et al.⁸³ (2003) observaram através de um estudo em MEV que ocorreu um aparente aumento da porosidade superficial no esmalte após a aplicação do peróxido de hidrogênio 35% e Yurdukoru et al.⁹⁸ (2003) verificaram que a aplicação do peróxido de hidrogênio 35% por cinco minutos não mostrou mudanças topográficas significantes na superfície do esmalte.

No presente estudo, utilizou-se uma concentração alta (38%) do peróxido de hidrogênio e isso pode ter proporcionado grandes alterações na superfície do esmalte que possivelmente contribuíram para penetração do agente clareador para o interior da câmara pulpar dos dentes. Como observa-se na literatura, agentes clareadores de alta concentração são potencialmente prejudiciais ao tecido pulpar (NATHANSON⁶³, 1997), possivelmente devido as maiores alterações que estes provocam nos tecidos dentários. Seale & Wilson⁸¹ (1985) verificaram que a aplicação do peróxido de hidrogênio 35% e calor por 45 minutos levou a perda da vitalidade pulpar em alguns espécimes. Chen et al.¹⁸ (1993) avaliaram a liberação de oxigênio a partir do peróxido de hidrogênio em soluções ácidas e básicas e verificaram que a maior liberação de oxigênio ocorreu na solução de peróxido de hidrogênio 30% mais hidróxido de cálcio em temperatura ambiente. Os autores recomendam a utilização do peróxido de hidrogênio em temperatura ambiente para minimizar possíveis danos ao tecido pulpar.

Em contrapartida, estudos *in vivo* demonstraram pequeno ou insignificante dano após o tratamento clareador em consultório utilizando agentes clareadores de alta concentração (HANKS et al.⁴⁰, 1993). Cohen & Chase¹⁹ (1979) relataram que premolares expostos ao peróxido de hidrogênio 35% durante três sessões de 30 minutos não apresentaram evidência histológica de dano pulpar, mostrando poucas alterações, como moderada vasodilatação e aprisionamento do núcleo de odontoblastos

dentro de túbulos dentinários. Robertson & Melfi⁷⁵ (1980) encontraram apenas uma resposta inflamatória pulpar leve após duas aplicações de peróxido de hidrogênio 35% durante quatro dias. Baumgartner et al.¹⁰ (1983) utilizaram uma mistura clareadora composta por 1ml de ácido clorídrico 36%, 1ml de peróxido de hidrogênio 30% e 0,2ml de éter etílico e verificaram pequena ou nenhuma resposta pulpar após o tratamento clareador.

No entanto, Haywood⁴² (1997) relatou que o peróxido de hidrogênio 35% chega à polpa mais rapidamente, sendo que em 15 minutos de exposição ocorre penetração 12 vezes superior à quantia de peróxido obtida a partir do peróxido de carbamida 10%, entretanto, mesmo registrando tamanha agressão, o autor relembra que não há dano pulpar irreversível. A maior sensibilidade relatada com o uso do peróxido de hidrogênio 35% pode ser devido ao aumento da pressão intra-pulpar, vasodilatação e inflamação.

Portanto, a penetração de peróxidos para o interior da câmara pulpar pode acarretar *in vivo* pequenas reações inflamatórias, entretanto de caráter transitório (BOWLES & THOMPSON¹⁵, 1986; HANKS et al.⁴⁰, 1993).

Preocupados com as possíveis alterações dos peróxidos nos tecidos, estudos de citotoxicidade têm sido desenvolvidos para verificar a resposta do tecido pulpar à agressão provocada pela liberação destes peróxidos (HANKS et al.⁴⁰, 1993; TIPTON et al.⁸⁹, 1995).

Hoffman & Meneghini⁴⁸ (1979) (citado por BOWLES & BURNS¹⁴, 1992) demonstraram que o peróxido de hidrogênio foi citotóxico para cultura de células de fibroblastos humanos com perda da capacidade de formação de colônias devido a quebra na cadeia de DNA. Hanks et al.⁴⁰ (1993) verificaram que em 15 minutos os agentes clareadores se difundiram através de discos de dentina e alcançaram níveis capazes de causar efeitos biológicos nocivos sobre cultura de fibroblastos. Além disso, relatam que a citotoxicidade do peróxido de

hidrogênio foi influenciada pela concentração do peróxido e pelo período de contato com estas células.

Tipton et al.⁸⁹ (1995) determinaram a ação de agentes clareadores sobre fibroblastos gengivais *in vitro*. A análise microscópica revelou que soluções com concentrações de 0,05% a 0,025% do agente causaram morte da maioria das células. Em concentrações de 0,025% e 0,017% algumas mudanças morfológicas foram notadas e em concentrações iguais ou menores que 0,0125% as células apresentaram características morfológicas normais. Entretanto, em concentrações superiores a 0,006% ocorreu inibição da reprodução celular e em concentrações maiores que 0,0125% houve a redução da produção de fibronectina e colágeno tipo I e III. Os resultados mostraram que o agente clareador é citotóxico aos fibroblastos gengivais, tendo efeitos significativos sobre a viabilidade e morfologia, proliferação e atividades funcionais destas células que são importantes na manutenção do tecido e sua reparação. Hanks et al.⁴⁰ (1993) relataram que alguns agentes clareadores, após atravessar a dentina, foram citotóxicos para fibroblastos, reduzindo a atividade da succinil desidrogenase até 95%, dependendo do agente utilizado.

No entanto, embora os peróxidos sejam citotóxicos aos fibroblastos e afetem várias atividades funcionais *in vitro*, ainda não se têm evidências experimentais *in vivo* de como isso ocorre. Estas células são protegidas *in vivo* pela membrana epitelial, e acredita-se que fatores presentes na saliva e tecidos podem proteger os fibroblastos destes efeitos citotóxicos (TIPTON et al.⁸⁹, 1995).

Um possível mecanismo pelo qual a polpa pode se proteger de danos decorrentes do peróxido de hidrogênio é através da quebra enzimática das moléculas (BOWLES & BURNS¹⁴, 1992; BAUMGARTNER et al.¹⁰, 1999; ESPOSITO et al.²⁵, 2003). Carlsson¹⁷ (1987) relatou que as células pulpares convertem o oxigênio através de reações de redução em produtos tóxicos intermediários, como radicais superóxidos, peróxido de

hidrogênio e radicais hidroxilas. As células se defendem destes produtos intermediários através de três mecanismos: prevenção da formação destes produtos, através da eliminação destes produtos ou ainda pela reparação dos locais danificados. O sistema de defesa das células encontra-se intracelular, no fluido tissular, no plasma sanguíneo e nas secreções externas.

Na cavidade bucal a peroxidase salivar protege as glândulas salivares e as células da mucosa bucal da toxicidade do peróxido de hidrogênio, produzido pelas bactérias e pelas células das glândulas salivares, através da conversão do peróxido em oxigênio e água. Junto com a peroxidase ainda podem agir as enzimas catalase e superóxido-dismutase, entretanto a maior parte da defesa da saliva contra os subprodutos do peróxido de hidrogênio deve-se a peroxidase salivar. Tipton et al.⁸⁹ (1995) acreditam que enzimas presentes no meio bucal, como a catalase, glutathione peroxidase e a lactoperoxidase, são capazes de neutralizar também o peróxido proveniente de agentes clareadores, protegendo os tecidos e seus componentes celulares de possíveis efeitos adversos. Catalase e lactoperoxidase são enzimas que atuam na quebra da molécula de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (ROTSTEIN⁷⁶, 1993; HANKS et al.⁴⁰, 1993) e a enzima peroxidase provoca oxidação do peróxido de hidrogênio (BOWLES & BURNS¹⁴, 1992; HERNANDEZ-RUIZ et al.⁵⁶, 2001).

Rotstein⁷⁶ (1993) verificou que o peróxido de hidrogênio residual na câmara pulpar ou nos túbulos dentinários, após o procedimento clareador, foi eliminado com a enzima catalase. Portanto, o autor sugere o uso da catalase após o procedimento clareador para prevenir os efeitos adversos causados pelo peróxido de hidrogênio.

Em contrapartida, Bowles & Burns¹⁴ (1992) ao avaliar a atividade das enzimas catalase e peroxidase na proteção tecido pulpar durante o procedimento clareador em dentes com vitalidade pulpar, verificaram que a atividade da catalase foi muito baixa e a ação da

peroxidase foi praticamente inexistente. Os autores relataram que a inibição do peróxido de hidrogênio por enzimas presentes no tecido pulpar é muito pequena e sugerem cautela no uso de agentes clareadores em dentes com vitalidade pulpar.

Anderson et al.³ (1999) demonstraram também que células pulpares, especialmente odontoblastos e células endoteliais subjacentes a área de esmalte clareado, produzem heme-oxigenase I, uma importante enzima defensora em condições de estresse oxidativo. De acordo com esses autores, esses achados sugerem que a resposta pulpar ao estresse oxidativo ocorre em nível molecular, o que pode explicar a reversibilidade dos danos causados durante o clareamento. Acrescentam ainda que a relativa segurança dos agentes clareadores pode ser devido a resposta dos odontoblastos às agressões externas, com aumento da produção de heme-oxigenase I.

Os efeitos do peróxido de hidrogênio na atividade das enzimas do tecido pulpar também foram examinados por Bowles & Thompson¹⁵ (1986) que verificaram que sete enzimas tratadas com várias concentrações de peróxido de hidrogênio, duas enzimas recuperaram 50% de sua atividade original, duas retomaram 20 a 25% e três em 0 a 8%. A sensibilidade enzimática decresceu significativamente quando em contato com o peróxido de hidrogênio, sugerindo que os danos das células pulpares, decorrentes do clareamento de dentes com vitalidade pulpar, pode resultar em inativação das enzimas e conseqüente interrupção das atividades celulares normais.

Outra preocupação quanto à segurança dos agentes clareadores, é o seu potencial carcinogênico. Os peróxidos de hidrogênio e de carbamida produzem radicais livres os quais podem causar efeitos fisiológicos e patológicos, incluindo carcinogênese. Verifica-se que uma mutação no gene pode resultar em doenças graves e câncer, sendo assim imperativo avaliar cuidadosamente o risco potencial associado com o uso de agentes clareadores que contém peróxido de hidrogênio. Várias

investigações não encontraram evidência de carcinogenicidade dos peróxidos de hidrogênio e de carbamida. Li⁵⁵ (1998) relatam que aplicações semanais de peróxido de hidrogênio 15 e 30% na pele dorsal de ratos por 50 semanas, não induziu nenhuma formação de células carcinogênicas, não sendo, portanto, um agente carcinogênico.

Recentemente, estudos têm avaliado a penetração de agentes clareadores para o interior da polpa de dentes restaurados (OWENS et al.⁶⁷, 1998; PRICE et al.⁷³, 2000; GOKAY et al.³⁴⁻³⁵, 2000; BENETTI et al.¹¹, 2004).

No presente estudo verificou-se que a penetração do peróxido de hidrogênio 38% apresentou valores maiores nos dentes humanos e bovinos restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina, apresentando diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos.

Nos dentes humanos, aqueles restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina apresentaram diferença nos valores de penetração de peróxido de hidrogênio ($2,27 \pm 0,41 \mu\text{g}$) estatisticamente significantes em relação aos dentes restaurados com resina composta ($1,59 \pm 0,92 \mu\text{g}$). Nos dentes bovinos, aqueles restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina apresentaram diferença nos valores de penetração de peróxido de hidrogênio ($0,79 \pm 0,61 \mu\text{g}$) estatisticamente significantes em relação aos dentes restaurados com resina composta ($0,28 \pm 0,15 \mu\text{g}$) e aos dentes sem restauração ($0,30 \pm 0,20 \mu\text{g}$).

A maior penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar de dentes restaurados se deve a microinfiltração ao redor destes materiais restauradores, pois nenhum material disponível previne completamente a microinfiltração (OWENS et al.⁶⁶, 1998; GOKAY et al.³⁵, 2000; DIBB et al.²⁴, 2001). Portanto, as margens das restaurações podem ser consideradas um possível caminho de penetração do peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar.

Em estudos de microinfiltração marginal em cavidades classe V restauradas, pode se verificar maior ou menor infiltração dependendo do tipo de material restaurador (Formolo et al.²⁹, 2001). Nunes⁶⁵ (2001) e Folwaczny et al.²⁸ (2001) demonstraram que dentes restaurados com resinas compostas apresentaram menor infiltração em comparação ao cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIV-MR) (Vitremer).

Crim²² (1992) avaliou o efeito do peróxido de carbamida sobre a microinfiltração de restaurações classe V com resina composta em dentes humanos. Os resultados demonstraram que o peróxido de carbamida afetou o selamento marginal da resina composta, permitindo que houvesse maior microinfiltração do corante. Da mesma forma, Gokay et al.³⁴ (2000) avaliaram a penetração de peróxido de hidrogênio para o interior da câmara pulpar verificando uma maior penetração de agentes clareadores para o interior da câmara pulpar de dentes restaurados. Benetti et al.¹¹ (2004) também encontraram altos níveis de peróxido de hidrogênio no interior da câmara pulpar de dentes restaurados com resina composta. Owens et al.⁶⁷ (1998) verificaram o efeito de agentes clareadores a base de peróxido de carbamida e de hidrogênio sobre a microinfiltração de restaurações classe V em dentes humanos. Os resultados indicaram que o grupo restaurado com resina composta apresentou os maiores valores de microinfiltração comparado ao CIV-MR e ao compômero expostos a várias concentrações de agentes clareadores.

Em contrapartida, Gokay et al.³⁵ (2000) investigaram a penetração dos agentes clareadores para o interior da câmara pulpar em dentes humanos restaurados com vários materiais restauradores e verificaram que a quantidade de penetração foi significativamente menor nos grupos restaurados com resina composta. A maior penetração ocorreu nos dentes restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer). Concordando com outros estudos

(OWENS et al.⁶⁷, 1998; YAP & WATTANAPAYUNGKUL⁹⁷, 2002) e com a presente pesquisa.

Existe a hipótese de que os géis de peróxido de carbamida e de hidrogênio podem causar leves mudanças na superfície de resinas compostas, entretanto, essas mudanças são tão pequenas que não possuem nenhuma significância clínica. Isso se deve porque a fase resinosa dos compósitos é muito impermeável pelo grande número de partículas inorgânicas. Os cimentos ionômeros de vidro, entretanto, são mais susceptíveis a degradação química, sendo compostos por partículas inorgânicas ao redor de uma matriz hidrogel permeável que permite que agentes corrosivos penetrem na superfície do material (MAIR & JOINER⁵⁷, 2004).

Wattanapayungkul et al.⁹⁶ (2004) verificaram que o peróxido de carbamida (10% e 15%) não afetou a resina composta, enquanto que o compômero apresentou superfície rugosa após uma semana de clareamento. Yap & Wattanapayungkul⁹⁷ (2002) investigaram os efeitos dos peróxidos de carbamida 35% e hidrogênio 35% sobre a microdureza de quatro diferentes materiais restauradores. Os resultados indicaram que as resinas compostas apresentaram valores de microdureza superiores aos dos compômero e cimento ionômero de vidro modificado por resina, mas sem significância estatística, sendo que os agentes clareadores de consultório testados no experimento não foram capazes de afetar a microdureza dos materiais restauradores em questão. Attin et al.⁷ (2004) relatam que o uso de peróxido de hidrogênio 30-35% não causam efeito sobre a superfície da resina composta e que três sessões de 30 minutos com peróxidos de altas concentrações também não causaram nenhum efeito sobre cimento ionômero de vidro e CIV- MR.

Verificou-se anteriormente que a permeabilidade do esmalte e dentina permite que o agente penetre na superfície dentária para chegar ao tecido pulpar. Além disso, nos dentes restaurados supõe-se que a profundidade e o tamanho da restauração, o tempo de exposição ao

agente clareador e ainda a técnica utilizada possam afetar a taxa de penetração do agente clareador para o interior da câmara pulpar (THITINANTHAPAN et al.⁸⁸,1999; GOKAY et al.³⁴, 2000).

Diante do exposto pode-se verificar que é provável que os agentes clareadores tenham causado alterações morfológicas na superfície do esmalte e dentina, e penetrado através dos tecidos dentários até atingir a polpa tanto de dentes hígidos como de dentes restaurados.

Embora a literatura relate apenas efeitos colaterais reversíveis, devido a existência de mecanismos defensivos pulpar contra a irritação causada por agentes clareadores, os dados obtidos neste estudo reforçam a necessidade de atenção no uso de agentes clareadores, uma vez que a sensibilidade é um sintoma clínico e o desaparecimento desta, não implica em uma alteração reversível microscopicamente.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia utilizada e os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- a) independente da presença de restauração, todos os dentes submetidos ao clareamento apresentaram penetração de peróxido para o interior da câmara pulpar;
- b) os dentes humanos apresentam maior penetração de peróxidos do que os dentes bovinos em qualquer situação experimental;
- c) a penetração do peróxido para o interior da câmara pulpar de dentes restaurados depende do tipo do material restaurador, sendo maior nos dentes humanos e bovinos restaurados com cimento ionômero de vidro modificado por resina.

8 REFERÊNCIAS*

1. ADIBFAR, A. et al. Leaching of hydrogen peroxide from bleached bovine enamel. **J Endod**, v.18, n.10, p.488-91, Oct 1992.
2. AMES, J.W. Removing stains from mottled enamel. **J Am Dent Assoc / Dent Cosmos**, p.1674-7, 1937 apud NOVAIS, R.C.P.; TOLEDO, O.A. Estudo in vitro das alterações do esmalte dentário submetido à ação de um agente clareador. **J Bras Clin**, v.4, n.20, p.48-51, 1999.
3. ANDERSON, D.G. et al. A clinical assessment of the effects of 10% carbamide peroxide gel on human pulp tissue. **J Endod**, v. 25, n.4, p.247-50, Apr. 1999.
4. ARAÚJO, M.A.M. et al. **Estética para o clínico geral**. São Paulo: Artes Médicas, 2005. 345p.
5. ARENDS, J. et al. Interaction of urea and human enamel. **Caries Res**, v.18, n.1, p.17-24, 1984.
6. ATTIN, T. et al. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. **J Oral Rehabil**, v.24, n.4, p.282-6, Apr. 1997.
7. ATTIN, T. et al. Effect of bleaching on restorative materials and restorations--a systematic review. **Dent Mater**, v.20, n.9, p.852-61, Nov. 2004.
8. BANKS, W.J. **Sistema digestivo I: canal alimentar**. In: Histologia veterinária aplicada. São Paulo: Manole, 1992. Cap. 21, p.425-36.

* Baseado em: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro. **Informação e documentação: referências, elaboração**, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002.23p.

9. BARATIERI, L.N., et al. **Clareamento dental**. São Paulo: Ed. Santos, 1996. 176p.
10. BAUMGARTNER, J.C.; REID, D.E.; PICKETT, A.B. Human pulpal reaction to the modified McInnes bleaching technique. **J Endod**, v.9, n.12, p.527-9, Dec. 1983.
11. BENETTI, A.R. et al. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. **Int Endod J**, v.37, n.2, p.120-4, Feb. 2004.
12. BITTER, N.C. A scanning electron microscope study of the long-term effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. **Gen Dent**, v.46, n.1, p.84-8, Jan./Feb. 1998.
13. BONFIM, M.D.C. **Estudo comparativo, ao microscópio de luz, da morfologia das dentinas bovina e humana**. 2000. 46p. Monografia (Especialização em Dentística Restauradora) – Universidade de Mogi das Cruzes. Mogi das Cruzes.
14. BOWLES, W.H.; BURNS, H. JR. Catalase/peroxidase activity in dental pulp. **J Endod**, v.18, n.11, p.527-34, Nov. 1992.
15. BOWLES, W.H.; THOMPSON, L.R. Vital bleaching: the effects of heat and hydrogen peroxide on pulpal enzymes. **J Endod**, v.12, n.3, p.108-12, Mar. 1986.
16. BOWLES, W.H.; UGWUNERI, Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. **J Endod**, v.13, n.8, p.375-7, Aug. 1987.
17. CARLSSON, J. Salivary peroxidase: an important part of our defense against oxygen toxicity. **J Oral Pathol**, v.16, n.8, p.412-6, Sept. 1987.
18. CHEN, J.H.; XU, J.W.; SHING, C.X. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical conditions. **J Prosthet Dent**, v.69, n.1, p.46-8, Jan. 1993.

19. COHEN, S.C.; CHASE, C. Human pulpal response to bleaching procedures on vital teeth. **J Endod**, v.5, n.5, p.134-8, May 1979.
20. COOPER, J.S.; BOKMEYER, T.J.; BOWLES, W.H. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. **J Endod**, v.18, n.7, p.315-7, July 1992.
21. CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas**. Maringá: Dental Press, 2002. 448p.
22. CRIM, G.A. Post-operative bleaching: effect on microleakage. **Am J Dent**, v.5, n.2, p.109-12, Apr. 1992.
23. DARNELL, D.H.; MOORE, W.C. Vital tooth bleaching: the white and brite technique. **Compendium**, v.11, n.2, p.86, 88-90, 92-4, Feb 1990.
24. DIBB, R.G.P. et al. Avaliação in vitro da microinfiltração marginal em restaurações classe V de materiais restauradores estéticos. **Rev Odontol UNESP**, v.30, n.1, p.75-86, Jan./Jun. 2001. Resumo. Disponível em: <http://www.bases.bireme.br/>. Acesso em: 16 fev. 2005.
25. ESPOSITO, P. et al. Catalase activity in human healthy and inflamed dental pulps. **Int Endod J**, v. 36, n. 9, p. 599, 2003.
26. FEINMAN, R.A. Bleaching vital teeth. **Curr Opin Cosmet Dent**, p. 23-9, 1994.
27. FEINMAN, R.A. Tooth-whitening developments: chairside versus over-the-counter. **Pract Periodontics Aesthet Dent**, v.11, n.2, p.277, Mar. 1999.
28. FOLWACZNY, M. et al. Class V lesions restored with four different tooth-colored materials--3-year results. **Clin Oral Investig**, v.5, n.1, p.31-9, Mar 2001. Abstract Medline. Disponível em ncbi.nlm.gov/PubMed/. Acesso em: 16 fev. 2005.

29. FORMOLO, E.; SARTORI, A.; DEMARCO, F. Infiltração marginal em cavidades de classe V com o uso de diferentes materiais adesivos. **RPG**, v.8, n.4, p.306-12, Out./Dez. 2001. Resumo. Disponível em <http://www.bases.bireme.br/>. Acesso em: 16 fev. 2005.
30. FUGARO, J.O. et al. Pulp reaction to vital bleaching. **Oper Dent**, v.29, n.4, p.363-8, July/ Aug. 2004.
31. GALLAGHER, A. et al.. Clinical study to compare two in-office (chairside) whitening systems. **Clin Dent**, v.13, n.6, p. 219-24, 2002.
32. GERLACH, R.W.; ZHOU, X. Vital bleaching with whitening strips: summary of clinical research on effectiveness and tolerability. **J Contemp Dent Pract**, v.15, n.3, p.1-16, Aug. 2001.
33. GOKAY, O.; MÜJDECI, A.; ALGN, E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips. **J Endod**, v.30, n.12, p.887-9, Dec. 2004.
34. GOKAY, O.; TUNCBILEK, M.; ERTAN, R. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents on teeth restored with a composite resin. **J Oral Rehabil**, v.27, n.5, p. 428-31, May 2000.
35. GOKAY, O. et al. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. **J Endod**, v.26, n.2, p.92-4, Feb. 2000.
36. GOLDSTEIN, C.E. et al. Bleaching vital teeth: state of the art. **Quintessence Int**, v.20, n.10, p.729-37, Oct. 1989.
37. GOLDSTEIN, R.E.; GARBER, D.A. **Complete dental bleaching**. Chicago: Quintessence, 1995. 165p.
38. GÓMEZ, A.P.A.; GIRALDO, G.M.H.; ARANGO, L.G.H. Peróxido de hidrogeno al 35% y peróxido de carbamida al 10% para el blanqueamiento dental. **Univ Odontol**, v.19, n.39, p.14-20, 1999.

39. GRIFFIN JUNIOR, R.E.; GROWER, M.F.; AYER, W.A. Effects of solutions used to treat dental fluorosis on permeability of teeth. **J Endod**, v.3, n.4, p.139-43, Apr. 1977.
40. HANKS, C.T. et al. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. **J Dent Res**, v.72, n.5, p.931-8, May 1993.
41. HANOSH, F.N.; HANOSH, G.S. Vital bleaching: a new light-activated hydrogen peroxide system. **J Esthet Dent**, v.4, n.3, p.90-5, May/ June 1992.
42. HAYWOOD, V.B. Nightguard vital bleaching: current concepts and research. **J Am Dent Assoc**, v.128, p.19S-25S, Apr. 1997.
43. HAYWOOD, V.B. Current status of nightguard vital bleaching. **Compend Contin Educ Dent**, v.28, p.S10-7, Jun. 2000. quiz S48.
44. HAYWOOD, V.B.; HEYMANN, H.O. Nightguard vital bleaching. **Quintessence Int**, v.20, n.3, p. 173-6, Mar. 1989.
45. HEGEDÜS, C. et al. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. **J Dent**, v.27, n.7, p. 509-15, Sept. 1999.
46. HERNANDEZ-RUIZ, J. et al. Catalase-like activity of horseradish peroxidase: relationship to enzyme inactivation by H₂O₂. **Biochem J**, v.15, n.354 (Pt 1), p.107-14, Feb 2001. Abstract Medline. Disponível em ncbi.nlm.gov/PubMed/. Acesso em: 16 fev. 2005.
47. HIRATA, H. et al. Clareamento de dentes vitalizados: situação clínica atual. **J Bras Odont Clin**, v.1, n.1, p.13-20, Jan./Fev.1997.
48. HOFFMAN, M.E.; MENEHINI, R. Action of hydrogen peroxide on human fibroblasts in culture. **Photochem Photobiol**, v.30, p.151-5, 1979 apud BOWLES, W.H.; BURNS, H. JR. Catalase/peroxidase activity in dental pulp. **J Endod**, v.18, n.11, p.527-34, Nov. 1992.

49. JOINER, A.; THAKKER, G. In vitro evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product. **J Dent**, v.32, n.1, p.19-25, 2004.
50. KAWAMOTO, K.; TSUJIMOTO, Y. Effects of the Hydroxyl Radical and Hydrogen Peroxide on Tooth Bleaching. **J Endod**, v.30, n.1, p. 45-50, Jan. 2004.
51. KWONG, K. et al. Evaluation of a 10 percent carbamide peroxide gel vital bleaching agent. **N Z Dent J**, v.89, n.395, p.18-22, Jan. 1993.
52. KWON, Y.H. et al. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel **J Oral Rehabil**, v.29, n.5, p. 473–7, May 2002.
53. LEONARD JUNIOR, R.H.; HAYWOOD, V.B.; PHILLIPS, C. Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching. **Quintessence Int**, v.28, n.8, p.527-34, Aug. 1997.
54. LEONE, C.A. et al. Clareamento dos dentes vitais. **Rev Paul Odontol**, v.15, n.6, p.28-34, Nov./Dez. 1993.
55. LI, Y. Tooth bleaching using peroxide-containing agents: current status of safety issues. **Compend Contin Educ Dent**, v.19, n.8, p. 783-6, 788, 790, Aug. 1998. quiz 796.
56. MACHADO, E.S.; FRASCA, L.C.S. Clareamento de dentes com peróxido de carbamida. **Rev Fac Porto Alegre**, v.35, n.2, p.15-7, Dez. 1994.
57. MAIR, L.; JOINER, A. The measurement of degradation and wear of three glass ionomers following peroxide bleaching. **J Dent**, v.32, n.1, p.41-5, Jan. 2004.
58. McCracken, M.S.; HAYWOOD, V.B. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. **J Dent**, v.24, n.6, p.395-8, Nov 1996. Abstract Medline. Disponível em ncbi.nlm.gov/PubMed/. Acesso em: 16 fev. 2005.

59. McEVOY, A.S. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth. II. Current techniques and their clinical application. **Quintessence Int**, v.20, n.6, p.379-84, June 1989.
60. MIRANDA, M.S. et al. Comparação em MEV entre a dentina humana e a dentina bovina. **Pesq Odontol Bras**, v.15, supl., p.80 (Resumo A081), 2001. Trabalho apresentado na 18ª Reunião Anual da SBPqO.
61. MOTTOLA, H.A.; SIMPSON, B.E.; GORIN, G. Absorptiometric determination of hydrogen peroxide in submicrogram amounts with leuco crystal violet and peroxidase as catalyst. **Anal Chem**, v.42, n.3, p.410-1, Mar. 1970.
62. NAKAMICHI, I.; IWAKU, M.; FUSAYAMA, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. **J Dent Res**, v.62, n.10, p.1076-81, Oct. 1983.
63. NATHANSON, D. Vital tooth bleaching: sensitivity and pulpal considerations. **J Am Dent Assoc**, v.128, p. 41S-44S, Apr. 1997.
64. NOVAIS, R.C.P.; TOLEDO, O.A. Estudo in vitro das alterações do esmalte dentário submetido à ação de um agente clareador. **J Bras Clin**, v.4, n.20, p.48-51, 1999.
65. NUNES, O.B.C. **Avaliação in vitro da microinfiltração marginal em cavidades classe V, restauradas com resinas compostas condensáveis, resina composta híbrida, resina composta modificada por poliácidos e ionômero de vidro modificado por resina**. Bauru; s.n; 2001. 141 p. illus, graf. Resumo. Disponível em: <http://www.bases.bireme.br/>. Acesso em: 16 fev. 2005.
66. OWENS, B.M.; HALTER, T.K.; BROWN, D.M. Microleakage of tooth-colored restorations with a beveled gingival margin. **Quintessence Int**, v.29, n.6, p. 356-61, June 1998.
67. OWENS, B.M. et al. Postoperative dental bleaching: effect of microleakage on Class V tooth colored restorative materials. **J Tenn Dent Assoc**, v.78, n.4, p. 36-40, Oct. 1998.

68. PAPATHANASIOU, A.; BARDWELL, D.; KUGEL, G. A clinical study evaluating a new chairside and take-home whitening system. **Compend Contin Educ Dent**, v.22, n.4, p.289-94, 296, 298, Apr. 2001. quiz 300.
69. PAPATHANASIOU, A. et al. Clinical evaluation of a 35% hydrogen peroxide in-office whitening system. **Compend Contin Educ Dent**, v.23, n.4, p.335-8, 340, 343-4, Apr. 2002. quiz 348.
70. PASHLEY, D.H. Mechanistic analysis of fluid distribution across the pulpodentin complex. **J Endod**, v.18, n.2, p. 72-5, Feb. 1992.
71. PERÓXIDOS DO BRASIL LTDA. **Peróxido de hidrogênio: determinação**. In: SOLVAY & CIE. Determination du titre. 2.ed. Curitiba, 1996. 9p..
72. PRETTI, M. et al. Penetração de peróxido de hidrogênio na câmara pulpar após clareamento com agentes de consultório fotoativados ou não. **Braz Oral Res**, v.18, supl., p. 91, 2004. (Resumo Ic021) Trabalho apresentado na 21ª Reunião Anual da SBPqO.
73. PRICE, R.B.; SEDAROUS, M.; HILTZ, G.S. The pH of tooth-whitening products. **J Can Dent Assoc**, v.66, n.8, p.421-6, Sep 2000. Abstract Medline. Disponível em ncbi.nlm.gov/PubMed/. Acesso em: 16 fev. 2005.
74. REEVES, G.W. et al. Microleakage of new dentin bonding systems using human and bovine teeth. **Oper Dent**, v.20, n.6, p. 230-5, Nov./ Dec. 1995. Medline. Disponível em ncbi.nlm.gov/PubMed/. Acesso em: 16 fev. 2005. (Abstract).
75. ROBERTSON, W.D.; MELFI, R.C. Pulpal response to vital bleaching procedures. **J Endod**, v.6, n.7, p. 645-9, July 1980.
76. ROTSTEIN, I. Role of catalase in the elimination of residual hydrogen peroxide following tooth bleaching. **J Endod**, v.19, n.11, p.567-9, Nov. 1993.
77. ROTSTEIN, I. et al. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. **J Endod**, v.22, n.1, p.23-5, Jan. 1996.

78. RUSE, N.D.; SMITH, D.C. Adhesion to bovine dentin--surface characterization. **J Dent Res**, v.70, n.6, p.1002-8, June 1991.
79. RUSE, N.D.; SMITH, D.C.; TORNECK, C.D.; TITLEY, K.C. Preliminary surface analysis of etched, bleached, and normal bovine enamel. **J Dent Res**, v.69, n.9, p.1610-3, Sept. 1990.
80. SARRETT, D.C. Tooth whitening today. **J Am Dent Assoc**, v.133, n.11, p.1535-8; Nov. 2002. quiz 1541.
81. SEALE, N.S.; WILSON, C.F. Pulpal response to bleaching of teeth in dogs. **Pediatr Dent**, v.7, n.3, p.209-14, Sept. 1985.
82. SILVA, C.M. et al. Shear bond strength of an adhesive system in human, bovine and swinish. **J Dent Res**, v.75, sp. Iss. p.395, 1996. (Abstract 3005).
83. SPALDING, M.; TAVEIRA, L.A.; ASSIS, G.F. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. **J Esthet Restor Dent**, v.15, n.3, p.154-64; 2003. discussion 165.
84. SULIEMAN, M.; ADDY, M.; MACDONALD, E.; REES, J.S. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. **J Dent**, v.32, n.7, p.581-90, Sept. 2004.
85. SULIEMAN, M. et al. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. **J Dent**, v.32, n.4, p. 295-9, May 2004.
86. SULIEMAN, M. et al. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. **J Dent**, v.33, n.1, p.33-40, Jan. 2005.

87. TAKODORO, M. A study on tooth changes with aging. II Changes in dentinal tubules of anterior teeth with aging. **Dent Outlook**, v. 16, p. 1149-1167, 1959 apud NAKAMICHI, I.; IWAKU, M.; FUSAYAMA, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. **J Dent Res**, v.62, n.10, p.1076-81, Oct. 1983.
88. THITINANTHAPAN, W.; SATAMANONT, P.; VONGSAVAN, N. In vitro penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide. **J Esthet Dent**, v.11, n.5, p. 259-64, 1999.
89. TIPTON, D.A.; BRAXTON, S.D.; DABBOUS, M.K. Effects of a bleaching agent on human gingival fibroblasts. **J Periodontol**, v.66, n.1, p.7-13, Jan. 1995.
90. TITLEY, K.C. et al. Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. **J Dent Res**, v.67, n.12, p.1523-8, Dec. 1988.
91. TOLEDANO, M. et al. Microleakage of Class V resin-modified glass ionomer and compomer restorations. **J Prosthet Dent**, v.81, n.5, p.610-5, May 1999.
92. TONAMI, K.; TAKAHASHI, H. Effects of aging on tensile fatigue strength of bovine dentin. **Dent Mater J**, v.16, n.2, p.156-69, Dec. 1997.
93. VONGSAVAN, N.; MATTHEWS, B. The permeability of cat dentine in vivo and in vitro. **Arch Oral Biol**, v.36, n.9, p. 641-6, 1991.
94. WAINWRIGHT, W.W.; LEMOINE, F.A. Rapid diffuse penetration of intact enamel and dentin by carbon 14-labeled urea. **J Am Dent Assoc**, v.41, n.2, p.135-9, Aug. 1950.
95. WATTANAPAYUNGKUL, P.; YAP, A.U. Effects of in-office bleaching products on surface of tooth-colored restorations. **Oper Dent**, v.28, n.1, p.15-19, Mar./Apr. 2003.
96. WATTANAPAYUNGKUL, P. et al. The effect of home bleaching agents on the surface roughness of tooth-colored restoratives with time. **Oper Dent**, v.29, n.4, p.398-403, July/Aug. 2004.

97. YAP, A.U.; WATTANAPAYUNGKUL, P. Effects of in-office tooth whiteners on hardness of tooth-colored restoratives. **Oper Dent**, v.27, n.2, p. 137-41, Mar./Apr. 2002.
98. YURDUKORU, B.; AKOREN, A.C.; UNSAL, M.K. Alterations in human enamel surface morphology following the use of an office bleaching agent and consecutive application of 37% phosphoric acid in vivo. **J Clin Dent**, v.14, n.4, p.103-7, 2003.

Anexo A – Cópia do certificado de aprovação pelo Comitê de Ética

unesp  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Av. Eng. Francisco José Longo, 777 - Jd. São Elzeir
CEP: 13206-970 - F. (12) 3647-9028

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 042/2004-PH/CEP, sobre “Penetração de peróxido de hidrogênio 38% no interior da câmara pulpar de dentes restaurados submetidos a clareamento externo”, sob a responsabilidade de SAMIRA ESTEVES AFONSO, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, envolvendo seres humanos, conforme Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 10 de agosto de 2004.



Profa. Dra. Suely Carvalho Mutti Naressi
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-Local

Anexo B – Valores da leitura em espectrofotômetro da penetração de peróxido para o interior da câmara pulpar de dentes bovinos

	BOVINOS				
	CIV	RESINA	CIV-MR	SEM RESTAURAÇÃO	CONTROLE
1	0,288	0,273	0,262	0,440	0,335
2	0,278	0,244	0,880	0,280	0,276
3	0,256	0,325	0,319	0,358	0,222
4	0,279	0,290	0,671	0,411	0,263
5	0,378	0,260	1,447	0,200	0,311
6	0,261	0,264	1,552	0,295	0,311
7	0,261	0,275	0,494	0,267	0,260
8	0,292	0,513	1,289	0,337	0,255
9	0,406	0,240	0,332	0,226	0,287
10	1,292	0,326	0,310	0,782	0,252
11	0,307	0,280	0,881	0,232	0,264
12	0,286	0,616	0,343	0,242	0,281
13	0,304	0,252	0,338	0,267	0,253
14	0,581	0,258	0,521	0,245	0,263

Anexo C – Valores da leitura em espectrofotômetro da penetração de peróxido para o interior da câmara pulpar de dentes humanos

	HUMANOS				
	CIV	RESINA	CIV-MR	SEM RESTAURAÇÃO	CONTROLE
1	1,884	0,491	0,954	1,398	0,199
2	2,027	1,510	1,628	1,450	0,256
3	2,142	2,189	1,718	1,827	0,237
4	1,676	2,165	1,663	1,796	0,223
5	1,724	1,780	2,063	1,529	0,219
6	1,688	1,216	1,394	1,571	0,207
7	1,817	1,464	2,016	1,860	0,277
8	1,170	0,535	1,880	1,852	0,201
9	1,964	0,436	1,896	1,608	0,200
10	2,069	1,101	1,989	1,646	0,171
11	1,278	0,596	1,820	1,927	0,229
12	0,731	0,475	1,817	1,852	0,198
13	0,767	1,964	2,128	1,651	0,175
14	1,635	2,016	1,964	1,673	0,187

CAMARGO, S.E.A. **Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique.** 2005. 148f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Especialidade em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

ABSTRACT

It is believe that externally applied bleachings agents could penetrate into the pulp chamber. This study was conducted to evaluate pulp chamber penetration of peroxide bleaching agent in human and bovine teeh, after office bleach technique. All the teeth were sectioned 3mm apical of the cemento-enamel junction and were divided into 2 groups: A (70 third human molars) and B (70 bovine lateral incisor) that were subdivided in: A1 and B1 restored using composite resin (Esthetic-X, Dentsply), A2 and B2 using glass ionomer cement (Vidrion-R, SSWhite), A3 and B3 using resin-modified glass ionomer cement (Vitremer, 3M); A4, A5, B4 and B5 were not restored. Acetate buffer was placed in the pulp chamber and the treatment agent was applied for 40 min as follow: A1 to A4 and B1 to B4 38% hydrogen peroxide exposure and A5 and B5 immersion into distilled water. The buffer solution was transferred to a glass tube where leuco crystal violet and horseradish peroxidase were added, producing a blue solution. The optical density of the blue solution was determined determined by spectrophotometer and converted into microgram equivalents of hydrogen peroxide. Data were submitted to ANOVA and Dunnett, Kruskal-Wallis, and Tukey tests (5%). A higher level of hydrogen peroxide penetrated into the pulp chamber in resin-modified glass ionomer cements groups, bovine ($0,79 \pm 0,61 \mu\text{g}$) and human ($2,27 \pm 0,41 \mu\text{g}$). The bleaching agent penetration was higher in human teeth for any experimental situation. The penetration of the hydrogen peroxide depend on restorative materials and that human teeth are more susceptible to penetration of bleaching agent into the pulp chamber than bovine teeth.

KEYWORDS: Tooth bleaching; analysis of variance hydrogen peroxide; dental pulp, human, animal.