

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

RENATO MIOTTO PALO

***Passagem de íons peróxido para a
superfície dentária externa após
clareamento interno com peróxido de
hidrogênio.***

ARARAQUARA
2009

RENATO MIOTTO PALO

***Passagem de íons peróxido para a
superfície dentária externa após
clareamento interno com peróxido de
hidrogênio.***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Odontologia – Área de Endodontia, da Faculdade de
Odontologia de Araraquara, da Universidade
Estadual Paulista, para obtenção do título de doutor
em Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

ARARAQUARA

2009

Palo, Renato Miotto

Passagem de íons peróxido para a superfície dentária externa após clareamento interno com peróxido de hidrogênio / Renato Miotto Palo.– Araraquara: [s.n.], 2009.

110 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia

Orientador : Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

1. Peróxido de hidrogênio 2. Clareamento de dente 3.
Transporte de íons I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

RENATO MIOTTO PALO

***Passagem de íons peróxido para a superfície dentária externa
após clareamento interno com peróxido de hidrogênio.***

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador

Idomeo Bonetti Filho

2º Examinador

Cacio de Moura-Netto.

3º Examinador

Ivaldo Gomes de Moraes

4º Examinador

Marcia Carneiro Valera

5º Examinador

Fabio Luiz Camargo Villela Berbert

Araraquara, 03 de agosto de 2009

Obrigado **DEUS**,

Por sua infinita bondade e sempre escutar as nossas preces.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta
pesquisa.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha amiga, amante, namorada, esposa, companheira e mãe **Paula Regina Oliveira de Carvalho Miotto Palo** que sempre me apoiou em todos os projetos da minha vida.

Gostaria de agradecer pelo esforço, paciência e compreensão por esta fase em que voltamos a ser estudante.

Assim gostaria de dizer **obrigado** por permitir que eu faça parte da sua vida e **obrigado** por deixar eu te amar!

Amo você.

Dedico ao nosso querido “feijãozinho” que por 12 semanas fez parte de nossas vidas, nos dando brilho, alegria e ânimo. Sabemos que Deus em sua sabedoria decidiu que ainda não era o momento dele estar entre nós. Mas sabemos que está em algum lugar muito melhor.

Dedico ainda aos meus pais **Belso e Marisa** que fizeram tudo para que eu pudesse ter uma boa educação. Tenho ciência das dificuldades atravessadas, mas sempre colocaram a formação acima de tudo. Esta é mais uma forma de dizer “muito obrigado” pelo esforço dispensado para que eu tivesse uma profissão.

E aos meus irmãos **Fábio e Thiago**, por sempre poder contar com vocês.

Agradeço a DEUS por tê-los como minha família.

Amo vocês.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço ao **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho** por ter sido meu orientador neste trabalho. Agradeço de todo coração a compreensão de minhas ausências e falhas. Acreditou em mim em todos os momentos e permitiu que eu conseguisse concluir mais esta fase de minha vida.

Obrigado por tudo!!

Agradeço a minha sempre orientadora **Profa. Dra. Marcia Carneiro Valera** por mais uma vez ser minha fonte de inspiração e exemplo.

Em minhas andanças nunca conheci nenhum profissional tão completo. Você soma todas as características profissionais à de ser humano incrível, correto e dedicado.

A sua postura correta como professora, orientadora e principalmente como ser humano me fez enxergar os valores da profissão e da conduta profissional com outros olhos.

Agradeço por permitir que eu fizesse parte de seus amigos.

Obrigado de todo o meu coração por tudo que tem feito por mim.

Agradecimentos

Ao querido amigo **Renato de Toledo Leonardo**, não tenho palavras de agradecimento pelas oportunidades que tem me proporcionado. A confiança que tem depositado em mim nunca será esquecida! Obrigado por ser meu amigo!

Ao meu eterno amigo **Celso Kenji Nishiyama**, obrigado por ter sempre acreditado em mim. Abriu as portas para que pudesse trabalhar com você, sem mesmo nunca ter me assistido para saber se eu era merecedor de tanta confiança. Isso sempre será lembrado.

Conte comigo sempre.

Ao meu **tio Fernando**, tudo o que progredi neste caminho profissional foi seguindo teus passos. Sempre nos espelhamos em alguém que beira à perfeição profissional, e é isso que sempre enxerguei. Obrigado por ser meu guia.

Aos queridos **Samira Esteves Afonso Camargo** e **Carlos Henrique Ribeiro Camargo**, definitivamente, sem a presença e ajuda de vocês minha vida seria diferente. Vocês foram fundamentais na realização deste trabalho em uma fase que precisava muito de ajuda. Vocês sempre nos contagia com sua amizade, carinho e companherismo.

A **Elaine Faga Iglecias** por estar sendo fundamental na minha vida, sua ajuda, presença incondicional e apoio permite que formemos um time. Ao Fe e a Vi, obrigado pela paciência. Obrigado!

Aos professores da disciplina de endodontia de Araraquara Fabio Berbert, Mario Tanomaru e Roberto Esberard, obrigado pela ajuda de sempre.

Aos companheiros de doutorado Anderson, Renata, Alexandre, Marco Aurélio, Sergio, Arnaldo, Regina, Frank e todos os outros que me ajudaram nesta fase onde sempre precisamos dos amigos.

Aos professores da disciplina de endodontia de São José dos Campos Márcia, Carlos Henrique, Alberto, Ana Paula e Cláudio, obrigado pela ajuda de sempre.

À professora Nadir Gasparolo Mancini que não mediu esforços em me ajudar em toda a fase laboratorial.

Em especial, às minhas amigas, Lilian, Alessandra e Paula por terem me ajudado em fases fundamentais para a conclusão deste trabalho. Admiro suas capacidades e agradeço toda a ajuda.

À Fernanda e Josi, obrigado pela paciência e apoio. Um beijo ao pequeno Arthur.

Ao Prof. Ivan Balducci obrigado pelo apoio incondicional que me deu.

Ao Emanuel e Emanuelzinho, obrigado pela paciência das muitas vezes que atrapalhei o convívio da casa de vocês.

Ao amigo Carlos Alberto de Oliveira Battaglini, pelo companheirismo de sempre e por ter ficado no meu lugar nos dias em que me ausentei.

Agradeço à minha tia Cynthia e minha prima Ana Laura por terem me apoiado nesta fase.

Às minhas avós Nadyr e Mercedes pela compreensão da minha ausência.

Agradeço ainda ao Augusto, Célia, Marcelo, Martinez, João Marcelo, Luiza e principalmente à Dona Nilza, obrigado por permitirem eu faça parte desta família.

À querida Simone e Beto, obrigado pela confiança depositaram em mim na ECO. Vocês são amigos queridos.

Aos alunos de especialização em endodontia da Abc obrigado pela compreensão das minhas ausências.

Aos funcionários da Abeno, obrigado pela ajuda nos momentos em que precisei.

Aos eternos irmãos Marcelo, Xã, Miltinho, Petroni, Bufano, Abdalla, Luiz, Imairê obrigado pela amizade de vocês e por estarem sempre por perto.

À nossa nova família SnoWines, vocês realmente fazem diferença!

Ao Michel, Fernanda, Sophie e Marie, obrigado por tudo que fazem por nós.

Aos sempre presentes Cacá e Renatinha, vocês são muito importantes para nós.

A toda tropa da Jaú, pelo carinho, compreensão, paciência.

Aos demais funcionários da Unesp – SJC, muito obrigado.

Aos demais funcionários da Unesp – Araraquara, muito obrigado.

Sumário

RESUMO	14
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Permeabilidade das estruturas dentinárias.....	20
2.2 Ação dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários.....	33
2.2.1 Ação sobre o conjuntivo pulpar	33
2.2.2 Efeitos esmalte, dentina e cimento.....	37
2.3 Junção Amelo-cementária.....	42
2.4 Atividade enzimática dos tecidos.....	44
2.5 Substrato bovino	48
3 PROPOSIÇÃO	57
4 MATERIAL E MÉTODO	58
4.1 Padronização do peróxido de hidrogênio	58
4.2 Levantamento da curva padrão do peróxido de hidrogênio	61
4.3 Seleção, Armazenamento e Preparo dos dentes	72
4.4 Divisão dos grupos e confecção das áreas a serem avaliadas.....	73
4.5 Quantificação do peróxido no interior da câmara pulpar	80

4.6	Método Estatístico.....	80
5	RESULTADO	81
5.1	Quantificação do peróxido.....	81
5.2	Análise Estatística.....	83
6	DISCUSSÃO.....	87
6.1	Discussão da metodologia	87
6.2	Discussão dos resultados	93
7	CONCLUSÃO	101
8	REFERÊNCIAS	102

Palo RM. Passagem de íons peróxido para a superfície dentária externa após clareamento interno com peróxido de hidrogênio. [Tese Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a quantidade de peróxido que passa da câmara pulpar para a superfície dentária externa durante o clareamento interno no esmalte, cemento e dentina. Foram utilizados 50 incisivos bovinos extraídos que receberam aberturas coronárias, as raízes foram cortadas a 5 mm da junção amelo-cementária e foi realizado um tampão de 2mm de ionômero de vidro selando a entrada do canal. A extremidade apical dos espécimes foi isolada externamente com resina composta fotoativada. Os dentes foram então impermeabilizados completamente, deixando exposto somente as áreas a serem estudadas. As câmaras coronárias foram preenchidas com peróxido de hidrogênio a 35%. Os dentes foram divididos em três grupos experimentais e dois grupos controles, com 10 espécimes cada. GE – esmalte exposto a ser avaliado; GC – cemento exposto a ser avaliado; GD – dentina exposta a ser avaliada; e dois grupos Controle: GC1 – sem a presença de clareador internamente e sem impermeabilização e GC2 – câmara pulpar preenchida com clareador e impermeabilização total. Cada amostra foi colocado no interior de reservatórios individuais com 1000µl de solução tampão de acetato 2M (pH 4,5). Após 7 dias a 37±1°C a solução foi transferida para um tubo de ensaio onde foram adicionados 100µl do corante violeta leucocristal e 50 µl de peroxidase, resultando em uma solução de coloração azul. A mensuração da absorbância foi feita em um espectrofotômetro e convertida em µg/ml de peróxido. Para avaliar se houve diferença entre os grupos experimentais e controle, realizou-se os testes de Kruskal-Wallis e Dunn-Bunferroni e os resultados mostraram os íons passaram mais pela dentina exposta, seguida da dentina recoberta pelo esmalte e dentina recoberta pelo cemento, sem diferenças estatísticas. Todos os grupos experimentais foram diferentes dos controles. Pode-se concluir que os íons oxidativos de peróxido foram capazes de passar da cavidade pulpar para a superfície externa pela dentina exposta, esmalte e cemento.

Palavras-chave: Peróxido de hidrogênio, Clareamento de dente, Transporte de íons.

Palo RM. Peroxide ions passage through external dental surface after internal bleaching with hydrogen peroxide [Tese Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

ABSTRACT

The aim of this study was evaluated the pulp chamber penetration of peroxide bleaching agent to the root surface during the internal bleach technique in the enamel, dentin and cement. Bovine teeth were sectioned 5mm apical of the cemento-enamel junction and was performed a 2mm cervical seal with glass ionomer cement. The external apical part of samples was filled with composite resin. The teeth were divided into three experimental groups and two control groups: GE – exposition of enamel; GC – exposition of cement; GD – exposition of dentin and control groups: GC1 – no presence of internal agent bleaching e no waterproof and GC2 – pulp chamber filled with bleaching agent and total waterproof. Each sample was placed inside of individual flasks with 1000µl of acetate buffer solution 2M (pH 4.5). After 7 days, 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 by spectrophotometer and converted into microgram equivalents of hydrogen peroxide. Data were submitted to Kruskal-Wallis, and Dunn-Bunferroni tests. The results showed that the ions penetration was higher in dentin followed by enamel and cement. All experimental groups presented statistical differences to the control groups.

KEY WORDS: Hydrogen peroxide, Tooth bleaching, Ion transport.

1 INTRODUÇÃO

No mundo atual a imagem corporal ganhou importância significativa no mercado de trabalho. Um sorriso harmônico e de aparência natural, torna-se vitrine pessoal, favorecendo a busca por dentes brancos. Para isto, o clareamento dental é uma opção de tratamento bastante utilizada porque oferece harmonia de cor aos dentes, um componente essencial da estética.

O clareamento dentário deve anteceder os procedimentos estéticos restauradores, pois permite a preservação da estrutura dental original, dispensando intervenções restauradoras invasivas para correção das alterações de cor (Leonardo³⁷, 2005). Nos casos em que a modificação de cor não é satisfatória, o clareamento dentário pode também ser utilizado em associação a tratamentos restauradores adesivos, facetas laminadas de porcelana, tratamentos protéticos, dentre outras terapias, para se obter harmonia completa do sorriso (Feinman²², 1999). As indicações para se utilizar o procedimento clareador estão associadas à existência de alterações cromáticas da estrutura dentária tanto em dentes tratados endodonticamente como em dentes com vitalidade do tecido pulpar. Estudos mostraram que o clareamento é eficaz no tratamento de fluorose, manchamento por tetraciclina, pigmentação intrínseca ou extrínseca adquiridas durante o envelhecimento, ou ainda em escurecimentos provocados pela terapia endodôntica (Goldstein, Garber²⁶, 1995; Matis et al.⁴⁰, 2000; Feinman²², 1999).

Para o tratamento de dentes tratados endodonticamente pode-se utilizar como agente clareador, o perborato de sódio associado à água destilada ou soro fisiológico (Holmstrup et al.³³, 1988) ou associado ao

peróxido de hidrogênio 3% (Bizhang et al.⁶, 2003) ou 30% (Anitua et al.³, 1990; Abou-Rass et al.¹, 1998; Waterhouse, Nunn⁷⁶, 1996). Com o advento dos géis, tanto os peróxidos de hidrogênio como o de carbamida são fabricados nesta forma de apresentação em diversas concentrações. Assim, os materiais clareadores hoje disponíveis no mercado para o clareamento de dentes despulpados são os peróxidos de hidrogênio e carbamida, e o perborato de sódio. Estes possuem mecanismos de ação semelhantes, pois tanto o peróxido de carbamida como o perborato de sódio se degradam em peróxido de hidrogênio (Haywood et al.²⁹, 1990), que por sua vez, se decompõe em água e oxigênio nascente.

Para o material clareador conseguir remover manchas intrínsecas, ele deve penetrar no interior do esmalte e dentina (Mcevoy⁴¹, 1989). No interior das estruturas mineralizadas o clareamento ocorre através de uma reação de oxi-redução, em que compostos com anéis de carbono altamente pigmentados são abertos e convertidos em cadeias mais claras na cor, tendo como subprodutos dióxido de carbono e água. (Carlsson¹⁴, 1987).

A passagem de íons pela estrutura dentária caracterizada como permeabilidade da mesma, tem sido documentada na literatura. Em 1950 Wainwright, Lemoine⁷⁵ verificaram a penetração de isótopos radioativos para o interior do esmalte e dentina. Outros autores observaram que o material clareador passa pela estrutura dentária e, após o procedimento clareador, a permeabilidade dentinária se mostra aumentada (Simon et al.⁶⁶, 1981; Dezotti et al.²¹, 2002).

Os efeitos da passagem do peróxido de hidrogênio colocado no interior da câmara pulpar, para a superfície externa radicular são discutíveis. Autores relacionam o peróxido de hidrogênio 30% e o perborato de sódio como os agentes clareadores mais utilizados na prática odontológica, e freqüentemente relacionados com o desenvolvimento de reabsorções cervicais externas (Dezotti et al.²¹, 2002). Esta relação ocorre

devido ao fato do peróxido de hidrogênio e outros radicais de oxigênio causarem destruição celular e tecidual (Halliwell, Gutteridge²⁷, 1984; Ramp et al.⁵¹, 1987) além de sérios danos ao fibroblasto humano (Simon et al.⁶⁶, 1981).

De acordo com a constatação de Marshall et al.³⁹ em 1960, a região cervical das raízes apresenta maior permeabilidade, em comparação aos terços médio e apical. Assim, são utilizadas técnicas para evitar que subprodutos do peróxido de hidrogênio, colocado na câmara pulpar durante as técnicas de clareamento, atinjam a superfície externa do dente e conseqüentemente o periodonto lateral cervical. Dentre elas, utilizam-se tampões cervicais ou bases protetoras colocadas na superfície interna da dentina radicular que podem reduzir a ocorrência de reabsorção cervical externa, uma vez que impedem a passagem de materiais clareadores da câmara pulpar para a superfície externa radicular (Friedman et al.²³, 1988; Rotstein et al.⁵⁶, 1991).

Este trabalho foi desenvolvido buscando quantificar o íon peróxido que passa para a superfície externa durante o procedimento clareador de dentes tratados endodonticamente, comparativamente na dentina exposta, dentina recoberta por esmalte, e por cimento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Avaliando a situação clínica atual do clareamento, Hirata et al.³² (1997) lembraram que a técnica de clareamento dental 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 posteriormente utilizados. Atualmente, emprega-se os peróxidos de hidrogênio e de carbamida para o tratamento clareador, principalmente na forma de gel, que oferece melhor controle clínico quando comparado às soluções. Dentre os agentes clareadores mais freqüentemente utilizados, o peróxido de carbamida apresenta menor potencial cáustico quando comparado ao peróxido de hidrogênio. O mecanismo de ação dos agentes clareadores é baseado no processo de oxi-redução. 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 resuma-se apenas a perdas minerais e agressões periodontais.

Neste capítulo foram abordados aspectos relacionados à metodologia deste trabalho, como a permeabilidade das estruturas dentárias, o efeito dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários, a pesquisa em dentes bovinos e a atividade enzimática dos tecidos frente à exposição ao peróxido de hidrogênio.

2.1 Permeabilidade das estruturas dentárias

A permeabilidade das estruturas dentárias vem sendo pesquisada desde a década de 50, quando Wainwright , Lemoine⁷⁵ avaliaram a penetração de uréia marcada com carbono 14 através do esmalte humano. Dentes hígidos e recém extraídos receberam profilaxia, foram lavados, secos e posteriormente expostos à solução radioativa durante cinco minutos. Em seguida, os dentes permaneceram à temperatura ambiente e umidade relativa de 20% durante períodos de tempo variáveis de 15 minutos a 17,5 horas para secagem. Os dentes foram então incluídos em um plástico incolor, sendo as coroas seccionadas após 24 horas, tanto transversalmente como longitudinalmente. A radioatividade de cada corpo-de-prova foi mensurada através de um traçador acoplado a um aparelho que registrou a atividade dos cortes avaliados. Foi conduzida ainda uma análise por meio de radioautografias. Os autores observaram penetração difusa da uréia, tanto através do esmalte intacto como pelo interior de fendas e lesões cariosas. Na maioria dos dentes houve penetração de uréia de 1,0 a 1,4mm em profundidade, sendo a maior penetração observada nos dentes posteriores, principalmente terceiros molares. Dos 14 dentes examinados, três mostraram penetração da uréia para o interior da câmara pulpar, sendo a contagem da atividade radioativa nos corpos-de-prova correspondentes a um total de 0,2µg de uréia sobre toda a superfície da amostra. Os autores concluíram que a superfície dentária é permeável a substâncias de baixo peso molecular, sendo a maior penetração dos isótopos radioativos em dentina

verificada próximo à junção amelo-cementária e ao redor de fissuras oclusais.

Outhwaite et al.⁴⁸ (1976) pesquisaram as mudanças na área de superfície, espessura, temperatura e o tempo pos-extração na permeabilidade da dentina humana. Foram utilizados terceiros molares que ainda não tinham erupcionado extraídos de jovens com idade média de 21 anos. Os dentes foram mantidos em tampão de fosfato a 10°C até o momento de serem seccionados. As secções começaram pelo desgaste da superfície oclusal até que todo o esmalte fosse removido. Em seguida discos de 1mm de espessura foram feitos, acompanhando o paralelismo da superfície oclusal, tomando o cuidado de não apresentarem cornos pulpares. Vinte e nove discos de dentina com estas características foram usados. A impregnação em iodeto foi realizada da face mais próxima do esmalte para a face mais próxima a polpa, dos discos de dentina seccionados. Avaliaram a movimentação do I125 pela dentina. Concluíram que o aumento da área da superfície dentinária exposta e a redução da espessura dentinária favorece a permeabilidade.

Na medida em que novas modificações foram introduzidas na técnica de clareamento dental, a penetração de outros agentes clareadores para o interior da câmara pulpar passou a ser investigada. Bowles, Ugwuneri¹⁰, em 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 em soluções de peróxido de hidrogênio 1%, 10% e 30% durante 15 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.

Fuss et al.²⁴ em 1989, avaliaram a permeabilidade dos túbulos dentinários pela ação do hidróxido de cálcio e de agentes clareadores. Utilizaram trinta dentes humanos intactos que, após preparo até lima #40 sob irrigação com soro fisiológico e condicionamento ácido, foram divididos em três grupos. O primeiro grupo recebeu em seu canal radicular uma mistura de perborato de sódio com peróxido de hidrogênio a 30%; o segundo grupo uma pasta de hidróxido de cálcio associado à água destilada e o terceiro grupo somente uma bolinha de algodão. A superfície externa foi isolada com parafina exceto o terço coronário das raízes. As amostras foram colocadas imersas em água destilada com pH=7. Mensurações foram feitas

1h e 3 dias após. As soluções de água destilada foram, então, trocadas e novas mensurações foram feitas após dez dias. Depois da mensuração final, os selamentos coronários foram removidos e os dentes foram imersos em novas soluções de água destilada para mensuração do material remanescente no interior dos canais. Os resultados mostraram que após 1h, três e dez dias, o pH da solução do meio externo dos dentes que continham a pasta de hidróxido de cálcio não mudou e da solução dos dentes que continham o agente clareador mudou para 7,9; 9,0 e 8,3, respectivamente. Após remoção do selamento coronário o pH externo da solução foi para 10,5 no grupo que continha hidróxido de cálcio e 7,1 para o grupo do agente clareador. Os autores concluíram que os agentes clareadores possuem a capacidade de passar pelos túbulos dentinários nas áreas de *lacking cementum* chegando à superfície externa radicular.

A permeabilidade da dentina bovina foi avaliada por Tagami et al.⁷⁰ (1989) que utilizaram incisivos bovinos que tiveram suas raízes removidas no nível da junção amelo-cementária e as coroas cimentadas em cilindros plásticos. As coroas, depois de cimentadas, receberam um primeiro corte no esmalte vestibular, sentido inciso-apical, mantendo a junção amelo-cementária intacta; um segundo corte foi realizado, paralelo ao primeiro, mantendo a parede pulpar intacta. Nestes discos dentinários foram realizados os testes de permeabilidade. Os discos foram padronizados e tratados com EDTA 0,5M por 2 min. e lixados para remoção do *smear layer*. A permeabilidade foi mensurada pela passagem de fosfato tamponado sob pressão de nitrogênio a 10 psi. Os autores concluíram que a permeabilidade da dentina coronária de incisivos bovinos é similar à da dentina radicular humana e menor de 6 a 8 vezes que a dentina coronária de terceiros molares humanos não erupcionados.

Rotstein⁵³, em 1991, durante o clareamento in vitro, quantificou a penetração do peróxido de hidrogênio 30% através da dentina e

cimento. Vinte e dois pré-molares humanos hígidos e recém extraídos receberam tratamento endodôntico com obturação através da técnica da condensação lateral de guta-percha e cimento AH 26. O corte do material obturador foi realizado 3mm abaixo da JAC e foram construídos defeitos artificiais, com brocas esféricas carbide em baixa rotação, nas quatro faces desta junção, deixando os túbulos dentinários expostos, simulando as irregularidades da região. Cada dente foi acondicionado em um modelo de estudo, ficando imerso em uma solução de água destilada até o limite da JAC, deixando somente a coroa para fora. Vinte μ l de H_2O_2 30% foram colocados dentro das câmaras coronárias e, de acordo com a técnica termo catalítica, os dentes foram submetidos a 15 ciclos de 1 minuto com uma lâmpada de 1000W a uma distância de 50cm. O intervalo entre cada ciclo foi de 30s. Após isso 0,5ml da solução ao redor dos dentes foi misturada com soluções químicas, que em contato com o H_2O_2 , mudam de cor. Assim através de um espectrofotômetro pode-se medir a quantidade de H_2O_2 liberado. Os resultados mostraram que em todos os casos houve escape de H_2O_2 , variando de 3 a 83,348 nmol.

Rotstein et al.⁵⁶, em 1991, reportaram os efeitos dos defeitos cementários na penetração de peróxido de hidrogênio 30% durante o clareamento interno. Utilizaram 36 pré-molares humanos recém extraídos, dos quais seis serviram como grupo controle e trinta como grupos experimentais. Os dentes foram tratados endodonticamente e obturados. O corte da guta-percha foi realizado a 3mm da JAC e os dentes divididos em 3 grupos: GA – dentes sem defeitos; GB - dentes com defeitos no nível da junção amelo-cementária e GC – dentes com defeitos 4mm abaixo da junção amelo-cementária. Os dentes foram montados em recipientes plásticos contendo 1,75ml de água bidestilada onde toda a raiz ficou submersa incluindo a junção amelo-cementária. Após isso 20 μ l de peróxido de hidrogênio 30% foi pipetado em cada cavidade de acesso dos dentes dos

grupos experimentais. Nos dentes do grupo controle, solução salina foi pipetada nas cavidades de acesso. Os dentes foram, então, submetidos a 15 ciclos de 1 minuto para o clareamento termocatalítico usando uma lâmpada de 1000W a uma distancia de 50cm, com intervalo de 30 segundos entre cada ciclo. Foram pipetados 0,5ml da solução que envolve os dentes e colocados em um tubo de ensaio e adicionado cloreto ferroso de amônia, uma solução que reage com o peróxido de hidrogênio resultando em uma solução que absorve luz a 480 nm. Assim, com o auxílio de um espectrofotômetro mediu-se a quantidade de peróxido de hidrogênio extravasado. Os autores perceberam que a quantidade de peróxido de hidrogênio coletado no meio externo dos dentes que não apresentavam defeitos cementários foi significativamente menor do que nos grupos que apresentavam defeitos.

Cooper et al.¹⁸, em 1992, propuseram avaliar a quantidade de peróxido de carbamida 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, Ugwuneri⁷ (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 leucocristal, sendo as densidades ópticas das soluções registradas em espectrofotômetro calibrado a 596nm. Posteriormente, estes

dados foram convertidos em microgramas 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 há menor penetração para o interior da câmara pulpar a partir do peróxido de carbamida quando comparado ao peróxido de hidrogênio livre.

Smith et al.⁶⁸, em 1992, avaliaram a efetividade da barreira cervical com Cavit na infiltração pós clareamento interno. Para isso quarenta dentes superiores anteriores foram selecionados e em cada dente foi criado um defeito cementário de 1mm^2 em uma das faces proximais na junção amelo-cementária. Os dentes foram abertos e instrumentados 1mm aquém do ápice até a lima #50 de acordo com a técnica *step-back* e tendo como irrigador, 2ml de solução de hipoclorito de sódio 5,25%. A obturação seguiu a técnica da condensação lateral ativa com cones de guta percha e cimento Roth. O corte do material obturador foi no nível da junção amelo-cementária da face vestibular. As amostras foram divididas em quatro grupos de dez dentes. Grupo 1: depois de obturados os dentes foram mantidos a 37°C e 100% de umidade durante duas semanas para a presa total do cimento, seguido de aplicação de ácido ortofosfórico a 30% durante 30s. Foi colocado, então, o material clareador composto de 2g de perborato de sódio e 20 cápsulas de superoxol e trocado após sete dias. G2: após obturação, uma fina camada de 2mm de Cavit foi colocada e novamente se esperou a presa dos cimentos, seguida de ataque ácido e colocação do material clareador. G3: imediatamente após a obturação foram realizados o ataque ácido e a colocação do material clareador. G4 : após a obturação realizou-se a barreira com Cavit sem esperar a presa dos cimentos e, então, o ataque ácido e a colocação do material clareador. Os autores concluíram que uma barreira de

2mm com Cavit foi efetiva, significativamente, para reduzir a infiltração nos túbulos dentinários.

Buscando determinar a citotoxicidade das soluções de peróxido de hidrogênio aplicadas sobre culturas celulares, quantificar a difusão do peróxido de hidrogênio dos agentes clareadores através da dentina e avaliar o risco de citotoxicidade pulpar devido à exposição dentinária aos clareadores, Hanks et al.²⁸ (1993) conduziram um estudo triplo. Inicialmente alíquotas de peróxido de hidrogênio, cujas concentrações variaram de 0 a 16mmol/l, foram adicionadas a culturas de fibroblastos que permaneceram incubadas durante uma ou seis horas para posterior análise da atividade enzimática da succinil desidrogenase. Numa segunda etapa, quantificou-se a difusão de peróxido de hidrogênio através da dentina in vitro, em uma câmara pulpar artificial. Para isso, discos de dentina de 0,5mm foram expostos aos agentes clareadores (Brite Smile 10%; Brite Smile 3%; Denta-Lite; DentalBright; Rembrandt Lighten; Union Broach Nu-Smile 15%) em tempos de 15 minutos, 1 hora ou 6 horas. A solução obtida no aparato experimental, abaixo dos discos de dentina, foi transferida a um tubo de ensaio onde reagiu com peroxidase e corante violeta leucocrystal, seguindo a metodologia preconizada por Mottola et al.⁴³ (1970). As soluções resultantes das reações foram analisadas em espectrofotômetro a 596nm e os valores de absorbância registrados em cada amostra foram convertidos em microgramas de peróxido. Numa terceira fase, as soluções obtidas da difusão dos agentes clareadores através da câmara pulpar artificial após 15 e 60 minutos foram aplicadas em novas culturas celulares de fibroblastos. Os resultados mostram que o peróxido de hidrogênio inibiu a produção de succinil desidrogenase em até 95% quando a cultura de fibroblastos foi exposta ao peróxido de hidrogênio 0,88mol/l. A difusão dos agentes clareadores através dos discos de dentina da câmara pulpar artificial foi

constatada em todos os produtos testados. Após seis horas de exposição, Brite Smile 10% provocou a maior penetração de peróxido de hidrogênio (190mmol/l), seguido do Brite Smile 3% (60mmol/l) e Union Broach Nu-Smile 15% (57mmol/l). A penetração de peróxido a partir de Denta-Lite (45mmol/l), Dentlbright (40mmol/l) e Rembrandt Lighten (37mmol/l) não diferiu estatisticamente entre si. Quanto maior o tempo de exposição, maior difusão de peróxido observada. Quanto à aplicação das soluções resultantes da difusão dos clareadores através da dentina, os autores constataram que, em apenas 15 minutos, o peróxido de hidrogênio proveniente dos diversos agentes clareadores testados se difundiu através da dentina em níveis capazes de provocar efeitos biologicamente prejudiciais.

Weiger et al.⁷⁷, em 1994, avaliaram a penetração radicular do peróxido de hidrogênio durante o clareamento interno com várias formas de perborato de sódio. Utilizaram 63 incisivos humanos extraídos que após acesso coronário foram imersos em células sanguíneas vermelhas por dez dias para o escurecimento. Defeitos no cemento foram realizados nas faces mesial e distal, ao nível da junção amelo-cementária. A técnica de clareamento empregada foi *walking bleach* e desta forma os dentes foram clareados por seis dias com trocas das pastas no primeiro e terceiro dias. Os grupos continham: G1: perborato de sódio monohidratado + H₂O₂ 30% (n = 12); G2: perborato de sódio trihidratado + H₂O₂ 30% (n = 12); G3: perborato de sódio tetrahidratado + H₂O₂ 30% (n = 12); G4: perborato de sódio tetrahidratado + H₂O (n = 12); G5: perborato de sódio tetrahidratado + H₂O + gel experimental (n = 12) e G6: sem pasta clareadora.(n = 3). Concluíram que os dentes dos grupos 1 e 3 tiveram mais penetração do peróxido de hidrogênio em comparação ao grupo 4. O grupo que menos infiltrou foi o utilizado perborato de sódio tetrahidratado e água.

No intuito de investigar o comportamento de três produtos contendo o mesmo ingrediente ativo e a mesma concentração, porém de marcas comerciais diferentes, Thitinantapan et al.⁷¹ (1999) propuseram avaliar a quantidade de peróxido de hidrogênio que atinge a câmara pulpar. Utilizaram premolares humanos 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 à 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 ($1,282 \pm 0,762 \mu\text{g}$) 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 dental. 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 dental.

Gok y et al.²⁵ (2000) investigaram a passagem de agentes clareadores para o interior da câmara pulpar de dentes restaurados com resina composta, cimento de ionômero de vidro modificado por resina ou resina composta modificada por poliácidos. Sessenta e cinco dentes anteriores humanos tiveram suas raízes seccionadas e o tecido pulpar coronário removido sendo, em seguida, divididos em treze grupos. Cinco dentes não foram restaurados e permaneceram como controle. Nos demais dentes, cavidades classe V foram preparadas e restauradas com resina composta (Charisma: grupos I, IV, VII e X), resina modificada por poliácidos (Dyract: grupos II, V, VIII e XI) ou cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer: grupos III, VI, IX e XII). Em seguida, a câmara pulpar foi preenchida com tampão acetato e os dentes foram imersos nas soluções clareadoras de peróxido de hidr g nio 30% (grupos I, II e III), peróxido de carb mida 10% (grupos IV, V e VI), peróxido de carb mida 15% (grupos VII, VIII e IX) ou peróxido de carb mida 35% (grupos X, XI e XII). O grupo controle foi imerso em água destilada. Após 30 minutos de exposição aos agentes de tratamento, a solução tampão foi removida do interior da câmara e transferida a um tubo de ensaio onde reagiu com corante violeta leucocristal e peroxidase. A densidade óptica das soluções resultantes da reação foi mensurada e convertida em microgramas de peróxido. Os dados encontrados não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os três materiais restauradores testados nos grupos submetidos ao peróxido de carb mida 10% (5,4 a 6,84 g) ou 15% (7,38 a 7,86 g). Nos grupos tratados com peróxido de carb mida 35% (8,46 a 12,48 g) ou peróxido de hidr g nio 30% (25,88 a 31,64 g) observou-se que o cimento de ionômero de vidro modificado por resina permitiu a maior penetração de peróxido de hidr g nio (12,48 e 31,64 g) enquanto a resina composta apresentou os menores índices de penetração (8,46 a 25,88 g). Concluíram que produtos clareadores de concentrações mais elevadas promovem maior penetração

para o interior da câmara pulpar, sendo que o material restaurador empregado influencia na passagem dos agentes clareadores em direção à polpa.

Dezotti et al.²¹ em 2002, avaliaram a variação de pH e da permeabilidade da dentina cervical em dentes submetidos ao tratamento clareador. Foram utilizados 34 dentes incisivos recém extraídos, que receberam tratamento endodôntico e obturação usando Sealer 26. Os dentes foram divididos em quatro grupos: G1- 9 dentes tiveram o corte da obturação 2mm abaixo da JAC vestibular; G2- 9 dentes tiveram o corte da obturação até o nível da JAC vestibular; G3- 8 dentes tiveram o corte da obturação 2mm abaixo da JAC vestibular e esta foi selada com cimento ionômero de vidro Vitrebond 3M; G4- 9 dentes serviram como grupo controle (não receberam material clareador). No interior de cada câmara coronária foi colocada uma pasta de perborato de sódio (2g) e peróxido de hidrogênio a 30% (1 ml) e esta selada com resina composta Herculite. Os dentes receberam impermeabilizações com esmalte de unhas, com excessão dos 4mm próximos a JAC. Os dentes foram imersos em água destilada pH 5,6. As leituras de pH na solução foram feitas aos 30 min., 24h, 48h e 72h após a colocação do curativo. Após lavagem os dentes foram secos, incluídos em resina, cortados no sentido vestibulo-lingual e avaliados. Os autores observaram que o material clareador passa pela estrutura dentária e após o procedimento clareador a permeabilidade dentinária se mostra aumentada.

Em 2007, Camps et al.¹³ avaliaram o tempo necessário para difusão do peróxido de hidrogênio através da dentina humana de dentes endodonticamente tratados. Foram utilizados dois grupos de dentes pré-molares humanos recém extraídos, classificados como dentes jovens: extraídos por indicação ortodôntica (faixa etária de pacientes entre 12 a 20 anos de idade) ou dentes idosos: extraídos por indicação periodontal (faixa

etária de pacientes entre 41 e 62 anos de idade). Todos os dentes foram instrumentados e obturados pela mesma técnica e permaneceram em estufa a 37° C 100% de umidade por um dia para correta presa do cimento endodôntico utilizado. Os dentes foram impermeabilizados com esmalte de unha, exceto a superfície onde foi realizada uma cavidade classe 5 de 4 mm de comprimento por 2mm de largura, onde o gel clareador (Opalescence PF, Ultradent) foi colocado. Através de método colorimétrico foi mensurada a difusão de peróxido de hidrogênio em 1, 24, 48 e 120 horas e os dados submetidos à análise estatística. Os autores concluíram que nos dentes jovens a difusão de peróxido de hidrogênio se manteve por 352 horas, e apenas 291 horas nos dentes idosos. A concentração de peróxido de hidrogênio em relação ao tempo também foi avaliada, concluindo-se que o pico de 80% de H_2O_2 ocorreu por 33 horas nos dentes jovens e 18 horas nos idosos.

2.2 Ação dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários

2.2.1 Ação sobre o conjuntivo pulpar

Robertson, Melfi⁵² (1980), investigaram histologicamente a resposta pulpar frente à aplicação de peróxido de hidrogênio, associado ou não à aplicação de calor, em dentes humanos jovens. Participaram deste estudo pacientes que apresentavam pré-molares hígidos com indicação de exodontia por motivo ortodôntico. Os vinte e oito dentes analisados foram divididos em quatro grupos, que receberam duas aplicações de: peróxido de hidrogênio 35% associado ao calor (46 a 51°C); solução salina fisiológica e calor (46 a 51°C); peróxido de hidrogênio 35% isoladamente. A segunda aplicação do tratamento foi realizada quatro dias após a primeira sessão. O grupo controle não recebeu nenhum tratamento. Os dentes foram extraídos quatro dias após a segunda consulta e fixados para análise histológica. Os resultados mostram ausência de inflamação tanto no grupo controle como no grupo tratado com solução salina fisiológica e aplicação de calor. Nos grupos onde foi aplicado o peróxido de hidrogênio 35%, verificou-se resposta inflamatória leve, apresentando infiltrado inflamatório predominantemente composto de neutrófilos e linfócitos com destruição celular generalizada, independente da sua utilização isoladamente ou associada ao uso de calor.

Buscando um procedimento clareador de consultório eficaz e seguro, Seale, Wilson⁶⁴ (1985) propuseram determinar o método de clareamento mais efetivo com menores danos pulpare. Conduziram um

estudo in vivo em seis cães, que receberam inicialmente administração de tetraciclina. Após o irrompimento dos dentes permanentes, caracterizados pelo manchamento amarelado induzido pela tetraciclina, os dentes caninos de cada animal foram submetidos à aplicação de peróxido de hidrogênio 35% e calor (62°C) durante 15, 30 ou 45 minutos. Foram realizadas quatro sessões quinzenais em cada grupo, permanecendo o grupo controle isento de qualquer tratamento. Os animais foram sacrificados em períodos de 13, 62 e 92 dias após a última aplicação do tratamento clareador para todas as situações acima descritas. Os dentes foram preparados para avaliação microscópica, através da fixação em formalina, desmineralização e coloração em hematoxilina e eosina. Observou-se que, quanto mais longo o período de aplicação do peróxido de hidrogênio associado ao calor, mais severas foram as respostas pulpares, mostrando a formação de dentina reparativa, achatamento dos odontoblastos, hemorragia pulpar e presença de infiltrado inflamatório crônico. No período de avaliação de 62 dias, uma amostra tratada durante 45 minutos apresentou destruição da camada odontoblástica, formação de uma camada espessa de dentina reparadora, presença de células gigantes e reabsorção interna. Após 92 dias, o tratamento de 45 minutos resultou em um caso de necrose. Os demais dentes, clareados em sessões de 15 ou 30 minutos, mostraram reparação tecidual. Os autores concluíram que os danos causados à polpa são reversíveis, mas contraindicam tratamentos clareadores por períodos muito 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.¹⁶ (1993) desenvolveram um estudo com intuito de avaliar 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. Foram testadas as seguintes soluções: peróxido de hidrogênio 30%; peróxido de hidrogênio 30% associado ao ácido clorídrico 36% e éter nas proporções 5:5:1 (simulando a mistura de McInnes); peróxido de hidrogênio 30% e cloreto férrico; peróxido de hidrogênio 30% e hidróxido de sódio. A produção de gás oxigênio foi mensurada à temperatura ambiente (20°C) e após aquecimento a 45°C. Observou-se que, à temperatura ambiente, o peróxido de hidrogênio adicionado ao hidróxido de sódio apresentou a maior liberação de oxigênio. Como a decomposição do peróxido de hidrogênio 30% isolado foi acelerada pelo calor, os autores sugerem que o peróxido de hidrogênio seja utilizado à temperatura ambiente visando minimizar os riscos de injúria pulpar.

Tipton et al.⁷² (1995) pesquisaram os efeitos do peróxido de hidrogênio em fibroblastos, *in vitro*. Culturas de fibroblastos humanos foram expostas ao peróxido de hidrogênio e analisadas quanto à proliferação celular, produção de colágeno e de fibronectina. Avaliações microscópicas mostraram que o agente clareador em concentrações de 0,05% a 0,025% provocaram a morte da maioria das células. Em concentrações de 0,017% a 0,025%, algumas alterações morfológicas puderam ser observadas. O peróxido de hidrogênio não promoveu alterações celulares em concentrações inferiores a 0,0125%, mas inibiu a reprodução celular em concentrações superiores a 0,006% e reduziu a produção de fibronectina e colágeno tipo I e III em concentrações superiores a 0,0125%. Os efeitos deletérios do peróxido de hidrogênio foram efetivamente anulados quando se neutralizou com uma solução de catalase. Os autores concluíram que, *in vitro*, o peróxido de hidrogênio inibiu várias atividades celulares. Acreditam, no entanto, que enzimas presentes no meio bucal como a catalase, glutathione peroxidase e a lactoperoxidase, conseguem neutralizar o agente clareador, protegendo os tecidos e seus componentes celulares de possíveis

efeitos adversos. Destacam ainda a existência de outros mecanismos não específicos e não enzimáticos que também atuam minimizando a agressão provocada pelo peróxido de hidrogênio.

Em 2000, Lozada et al.³⁸ confirmaram que a sensibilidade dentária pós-tratamento clareador está relacionada com a passagem das substâncias clareadoras através do esmalte e dentina, produzindo uma ligeira irritação pulpar. Normalmente a sensibilidade pós-operatória é relatada após uma semana de clareamento, sendo significativamente maior quando se utilizam soluções de peróxido de carbamida em concentrações superiores a 15%. Os autores ressaltam ainda que a sensibilidade dentária está mais relacionada ao baixo peso molecular do agente clareador do que ao eventual baixo pH dos produtos clareadores.

Kinomoto et al.³⁵ em 2001 compararam a citotoxicidade do perborato de sódio com a do peróxido de hidrogênio nas células do ligamento periodontal (PDL) in vitro. Utilizaram para este estudo um ensaio baseado na liberação de desidrogenase láctea (LDH) de células com a membrana citoplasmática danificada. As células foram obtidas de ligamentos periodontais de terceiros molares recém extraídos, os quais foram imediatamente imersos em um meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), contendo penicilina, streptomina e fungizone. As substâncias clareadoras foram diluídas e colocadas em contato com o meio de crescimento celular por 24 e 72 horas. Os autores verificaram com isso que apesar de não poderem extrapolar os dados com a realidade clínica, o perborato de sódio mostrou ser mais seguro que o peróxido de hidrogênio quanto à toxicidade celular.

Em 2007, Smidt et al.⁶⁷ relataram o caso de um incisivo lateral esquerdo de uma paciente do sexo feminino que após realização de clareamento interno com perborato de sódio associado ao peróxido de

hidrogênio 3% apresentou-se com reabsorção cervical. Os autores apresentam a necessidade de intervenção interdisciplinar nesses casos, tentando manter o dente reabsorvido, o que depende da extensão da reabsorção.

2.2.2 Efeito sobre esmalte, dentina e cimento

Ramp et al.⁵¹, em 1987, estudaram a ação do peróxido de hidrogênio na inibição do metabolismo da glicose e na síntese de colágeno no osso. Para isso cultivou tíbias inteiras de embriões de dez dias ou a porção da diáfise de tíbias de embriões de 19 dias. As tíbias de dez dias de cada embrião foram separadas e cultivadas individualmente por três dias em reservatórios contendo 6ml do meio de crescimento. Um dos ossos de cada embrião foi colocado na solução contendo peróxido de hidrogênio e o outro osso foi colocado em uma solução livre de peróxido de hidrogênio (grupo controle). Os ossos dos embriões de 19 dias foram cultivados por dois dias em garrafas contendo vinte ossos imersos em 120 ml da solução de crescimento, onde em um grupo foi adicionado H_2O_2 e em outro não. Após dois dias no H_2O_2 as tíbias foram transferidas a um respirômetro para uma incubação final de 5 horas em meio sem H_2O_2 e contendo H-Prolina. Este procedimento eliminaria qualquer possível resíduo de H_2O_2 que alteraria a leitura volumétrica com o respirômetro. Após culturas os ossos foram lavados com NaCl, secos a 105°C e pesados. Os ossos secos serviram como base para a maioria dos resultados. Foram então estocados a -20°C para análise. Os resultados deste estudo demonstraram que H_2O_2 em concentrações muito inferiores daquelas usadas terapeuticamente no tratamento das

doenças orais podem causar inibição do metabolismo da glicose e da síntese de colágeno no osso.

Rotstein et al.⁵⁵, em 1992, analisaram o efeito de diferentes agentes clareadores na solubilidade e porcentagem de componentes inorgânicos da dentina e cimento humano. Para isso usaram dentes permanentes íntegros que tiveram suas dentinas separadas do cimento através do método de Brekhus, Amstrong¹¹ que se baseia na diferença de gravidade específica. Trinta miligramas de cada alíquota de dentina e cimento pulverizados foram separadamente imersos em 10ml de cada agente clareador testado, entre eles peróxido de hidrogênio 30%, peróxido de hidrogênio 3%, perborato de sódio 2% associado ao peróxido de hidrogênio 30%, perborato de sódio 2% associado ao peróxido de hidrogênio 30%, perborato de sódio 2% associado à água bidestilada e somente água destilada como controle. As amostras foram avaliadas aos 15min, 1h, 24h e 72h sob temperatura ambiente. A análise de solubilidade foi realizada medindo a quantidade de cálcio nas amostras. A determinação da alteração nos componentes inorgânicos se deu pesando as amostras antes e depois. Os autores concluíram que o peróxido de hidrogênio 30% causa alterações na estrutura química do cimento e dentina deixando-os mais susceptíveis a reabsorção, enquanto que o perborato de sódio não causa mudanças significativas na estrutura.

Rotstein et al.⁵⁷ (1996) conduziram uma análise histoquímica após o tratamento com peróxido de hidrogênio, peróxido de carbamida ou perborato de sódio, para avaliar o efeito dos agentes clareadores sobre os tecidos dentais. Vinte e um pré-molares humanos extraídos por indicações ortodônticas tiveram seus dois terços radiculares apicais seccionados e o terço cervical da raiz juntamente com a coroa foram seccionados longitudinalmente, separando em dois segmentos iguais, um

lingual e outro vestibular. Em cada segmento, parte do cimento foi removido, deixando dentina exposta. Os segmentos dentários foram divididos em seis grupos, tratados respectivamente com: peróxido de hidrogênio 30%, solução aquosa de peróxido de carbamida 10%, pasta de perborato de sódio e água, ou gel de peróxido de carbamida 10% (Nu-Smile, DentalBright ou Opalescence). As amostras foram imersas nos produtos testados onde permaneceram incubadas durante sete dias, sendo o grupo controle imerso em solução salina fisiológica. Em seguida, as amostras foram preparadas para análise histoquímica, em microscópio eletrônico de varredura e espectrômetro de energia dispersiva. Foram registrados os níveis de cálcio, fósforo, enxofre e potássio do esmalte, dentina e cimento. No esmalte, a redução dos níveis de cálcio e fósforo foi significativa após tratamento com peróxido de hidrogênio 30%. Na dentina, estes índices foram reduzidos após tratamento com peróxido de hidrogênio 30%, solução de peróxido de carbamida 10% e dois agentes comercialmente disponíveis (DentalBright e Opalescence). Para o cimento, a redução dos níveis de cálcio e fósforo foi encontrada após tratamento com peróxido de hidrogênio 30%, solução de peróxido de carbamida 10% ou gel de peróxido de carbamida 10% Nu-Smile e Opalescence. A redução nos níveis de enxofre e potássio não foi estatisticamente significativa, exceto em cimento, quando os níveis de enxofre diminuíram significativamente após tratamento com peróxido de carbamida 10% e perborato de sódio. Os autores concluíram que os agentes clareadores podem trazer prejuízos aos tecidos dentários, por isso aconselham cautela na sua utilização.

Estudando os efeitos deletérios dos agentes clareadores, Bonfim et al.⁷ (1998) relataram, numa revisão de literatura, que a superfície do esmalte é tão mineralizada que não demonstra significativa alteração após o clareamento. A desmineralização do esmalte se inicia em soluções de

pH inferior a 5,2, enquanto a desmineralização da superfície radicular se inicia quando o pH encontra-se em torno de 6,0. Os autores lembram que o local preferencial de penetração dos agentes clareadores é a região cervical, no limite amelo-cementário. Portanto, se estas áreas estiverem expostas, recomendam o uso de agentes dessensibilizantes, para promover o selamento dos túbulos e reduzir a permeabilidade dentinária desta região. Citaram ainda uma possível alteração na matriz orgânica do esmalte promovida pela utilização de peróxido de carbamida, já que trabalhos mostram redução na resistência à abrasão e dureza. Os autores consideraram que, embora existam diversas investigações sobre os efeitos biológicos dos produtos clareadores sobre os tecidos dentários, muitas vezes as metodologias descritas permanecem confusas e contraditórias. Ressaltam que mais pesquisas devem ser realizadas e que o clareamento por períodos prolongados deve ser evitado.

O estudo desenvolvido por Hegedüs et al.³⁰ (1999) teve como objetivo avaliar o efeito de dois agentes clareadores caseiros à base de peróxido de carbamida 10% (Opalescence, Nite-White) e uma solução de clareamento clínico de peróxido de hidrogênio 30%, na superfície do esmalte por meio de microscopia de força atômica. Foram utilizados quinze incisivos humanos que foram divididos aleatoriamente em três grupos de cinco dentes para cada agente clareador. A superfície vestibular dos dentes foi avaliada em microscópio de força atômica antes e após o tratamento clareador, que se constituiu da aplicação das substâncias testadas totalizando 28 horas, divididas em sete sessões de 4 horas. Algumas depressões e ranhuras presentes nos dentes hígidos tornaram-se mais profundas após o tratamento clareador em todos os grupos testados, tornando-se especialmente mais evidentes para o grupo tratado com a solução de peróxido de hidrogênio 30%. Os autores concluíram que os agentes clareadores caseiros podem

causar alterações superficiais do esmalte devido ao possível potencial de afetar a matriz orgânica, podendo comprometer não somente a superfície externa mas também a estrutura interna do esmalte. Estas alterações são resultado do baixo peso molecular dos agentes clareadores, que lhes confere a capacidade de penetração através das estruturas dentárias.

Chng et al.¹⁷ (2002), estudaram o efeito do peróxido de hidrogênio e do perborato de sódio nas propriedades da dentina humana. Usaram 44 pré-molares humanos que tiveram seus comprimentos de trabalho estabelecidos a 1mm aquém do forame apical e receberam tratamento endodôntico de acordo com a técnica *step-back* sob abundante irrigação de hipoclorito de sódio a 1%. Após o termino do preparo os dentes foram irrigados com 1ml de EDTA 15%, seguido de 5ml de hipoclorito de sódio 1%. Os canais foram secos e não receberam obturação, um selamento com Cavit foi feito a 4mm abaixo da junção amelo-cementaria. Os dentes foram divididos em quatro grupos de 11 dentes: a) Grupo 1 – bolinha de algodão embebida em água destilada. b) Grupo 2 – bolinha de algodão embebida em peróxido de hidrogênio 30%. c) Grupo 3 – pasta de perborato de sódio e água destilada. d) Grupo 4 – pasta de perborato de sódio e peróxido de hidrogênio 30%. Cada dente foi acondicionado individualmente em um dispositivo contendo uma solução salina isotônica durante sete dias a 37°C. Após este período os dentes foram seccionados e as dentinas submetidas aos testes de torção, cisalhamento e microdureza. Concluíram que o peróxido de hidrogênio 30% puro tende a causar mais danos à estrutura dentinária que quando misturado com o perborato de sódio.

2.3 Junção Amelo-Cementária

Schroeder, Scherle⁶³ em 1988, avaliaram as características da junção amelo-cementária. Para isso utilizaram trinta dentes humanos, sendo 12 premolares, 14 molares e quatro incisivos. Tanto os pré-molares quanto os molares eram dentes de pacientes jovens, sem patologias e com a junção amelo-cementária (JAC) sub-gengival, enquanto os incisivos eram dentes de pacientes idosos e que apresentavam retrações gengivais deixando a junção amelo-cementária exposta ao ambiente bucal. Os dentes foram lavados, fixados e preparados. Marcas foram feitas com uma caneta para delimitar as faces vestibular, mesial, lingual e distal, e analisados em MEV. Os dentes foram montados e giravam em seu longo eixo enquanto, através do microscópio posicionado a 90 graus da superfície dentária gravava toda sua volta em imagens de 6X9 cm. Assim puderam-se fotografar os distintos pontos de cada superfície onde tinha cimento recobrindo esmalte, intimo contato entre estes tecidos e espaços de dentina desnuda. Com essas imagens usando um MOP-AMO-I equipado com uma caneta cursor fez-se análises quantitativas dos seguintes parâmetros: comprimento tanto circunferencial da linha da JAC, quanto da mesma nas faces mesial, distal, vestibular e lingual; o comprimento do perímetro do dente na JAC e as extensões particulares dos três tipos de relação esmalte – cimento. Os resultados mostraram os seguintes dados: pré-molares superiores – 82,5% de contato cimento-esmalte, 17,5% de cimento recobrindo o esmalte e 0% de dentina desnuda; pré-molares inferiores – 68,3% de contato cimento-esmalte, 30,6% de cimento recobrindo o esmalte e 1,1% de dentina desnuda; molares superiores – 30,4% de contato cimento-esmalte, 45,6% de cimento recobrindo o esmalte e 24% de dentina desnuda e nos molares

inferiores – 42,6% de contato cimento-esmalte, 52% de cimento recobrimdo o esmalte e 5,4% de dentina desnuda.

McInerney, Zillich⁴² em 1992 avaliaram a habilidade seladora interna de três materiais. Para isso utilizaram 36 incisivos centrais superiores que tiveram tratamento endodôntico realizado com instrumentação até a lima 40 sob abundante irrigação de hipoclorito de sódio 5,25%. Os dentes foram divididos em seis grupos: a) grupo 1 – penetração quente sob calor com base de Cavit; b) grupo 2 – penetração sob calor com base de fosfato de zinco; c) grupo 3 – penetração sob calor com base de IRM; d) grupo 4 – penetração sem calor com base de Cavit; e) grupo 5 – penetração sem calor com base de fosfato de zinco; f) grupo 6 – penetração sem calor com base de IRM. As bases foram todas colocadas usando como referencia o nível lingual da junção amelo-cementaria de cada dente. Cada dente foi preparado para uma simulação de clareamento e limpos para observação da profundidade de penetração do corante. Os dentes foram condicionados com acido fosfórico 37,5% em cada câmara coronária foi colocado o corante procion verde. Nos grupos 1, 2 e 3 foram aquecidos com um instrumento a 145° F (62,77 três vezes com 2 minutos de intervalo entre os aquecimentos totalizando 10 minutos. As câmaras foram lavadas, secas e seccionadas para analise. Os autores concluíram que o corante quando aquecido penetrou mais do que em temperatura ambiente e, o cimento de fosfato de zinco mostrou maiores níveis de infiltração.

2.4 Atividade enzimática dos tecidos

Supõe-se que as células constituintes do organismo humano apresentem capacidades de defesa frente à agressões de natureza oxidativa. Assim, Bowles, Thompson⁹ (1986) investigaram os efeitos do peróxido de hidrogênio, com ou sem aplicação de calor, em sete enzimas encontradas na polpa dental bovina, envolvidas no metabolismo de carboidratos, lipídeos, aminoácidos ou nos processos de mineralização. Um extrato obtido a partir de oitenta polpas bovinas e tampão fosfato foi homogeneizado imediatamente após o abate e armazenado a 4°C. Foram pesquisados quatro grupos: a) o extrato foi submetido a um banho quente a 50°C durante intervalos de tempo de 1 a 30 minutos, seguidos do resfriamento a 4°C em gelo; b) o extrato pulpar foi exposto ao peróxido de hidrogênio, obtendo-se concentração final variando de 1,25 a 15%; c) o extrato foi adicionado ao peróxido de hidrogênio (concentrações de peróxido de hidrogênio de 2,5%, 7,5% e 15%) e imerso em banho quente a 50°C durante 7,5; 15 e 30 minutos respectivamente; d) controle – o extrato pulpar foi diluído em tampão fosfato. As amostras foram dializadas e, em seguida, duas gotas de catalase foram adicionadas para eliminar todo o peróxido de hidrogênio que pudesse permanecer e interferir na reação. A atividade enzimática foi avaliada em espectrofotômetro. Observou-se que a sensibilidade enzimática diminuiu significativamente quando em contato com o peróxido de hidrogênio. Quando expostas ao calor isoladamente, pequenas alterações foram observadas. No entanto, quando as enzimas pulpares entraram em contato com o peróxido de hidrogênio, foram inibidas especialmente quando associadas à aplicação de calor. Os autores

concluíram que o peróxido de hidrogênio, principalmente em presença de calor, pode impedir as atividades celulares normais.

Carlsson¹⁴ (1987) observou a ação da peroxidase salivar na defesa do organismo contra a agressão do peróxido de hidrogênio. Assim, descreve que o peróxido de hidrogênio provoca a oxidação de partes celulares vitais, como DNA, lipídeos e proteínas das membranas. Segundo ele, a defesa contra a toxicidade provocada pelo oxigênio atua em três níveis: pela prevenção da formação de intermediários tóxicos derivados da redução do oxigênio, através da desoxidação destes produtos ou ainda pela reparação dos sítios danificados. A peroxidase, juntamente com a catalase e a superóxido-dismutase, trabalham em conjunto na defesa intracelular. A defesa contra os produtos resultantes da oxidação do oxigênio está presente também nas secreções salivares. A peroxidase salivar protege as glândulas salivares e as células da mucosa bucal da toxicidade do peróxido de hidrogênio produzido pelas bactérias presentes na cavidade bucal e pelas células das glândulas salivares. A maior parte da defesa da saliva contra os subprodutos do peróxido de hidrogênio deve-se à ação da peroxidase salivar.

A catalase e a peroxidase como protetoras do organismo foram pesquisadas por Bowles, Burns⁸ (1992), para determinar se a polpa eliminaria o peróxido de hidrogênio. Para isso, polpas de terceiros molares recém-extraídas foram colocadas em solução de tampão fosfato e homogeneizadas, como fonte de enzimas. A eliminação do peróxido de hidrogênio em contato com as polpas foi quantificada em espectrofotômetro, pelo fato do peróxido de hidrogênio absorver luz ultravioleta em um comprimento de onda de 240nm em proporção direta à sua concentração. Sob baixas concentrações de peróxido, a decomposição enzimática é uma reação de primeira ordem, sendo a velocidade de reação igual à

concentração da enzima. Os dados obtidos foram comparados a uma solução em branco, assim foi possível verificar que a atividade da catalase foi muito baixa e a ação da peroxidase foi praticamente inexistente. Os autores acreditam que frente à inflamação pulpar e na presença de neutrófilos e eosinófilos, células ligadas à atividade enzimática, a peroxidase apresente atividade mais marcante. Concluíram que, devido à baixa atividade enzimática da polpa, a utilização de clareadores deve ser cuidadosa, embora poucos casos de injúrias tenham sido relatados clinicamente.

Rotstein⁵⁴ (1993) analisou a eficácia da catalase na eliminação de resíduos de peróxido de hidrogênio de dentes humanos quando comparado com enxágües prolongados de água. Vinte e dois premolares humanos extraídos por indicação ortodôntica foram preparados, obturados e o cimento próximo à união amelo-cementária foi removido. Realizou-se o clareamento interno com peróxido de hidrogênio 30% durante 20 minutos. Em seguida, os dentes foram tratados com catalase ou enxaguados com água. A penetração radicular do peróxido de hidrogênio foi mensurada imediatamente após o clareamento e novamente após o enxágüe com catalase ou água. Observou-se que três ciclos de enxágües de 5 minutos ou uma hora de imersão em água reduziram significativamente a penetração de peróxido de hidrogênio residual, enquanto uma única aplicação de catalase durante 3 minutos eliminou totalmente o peróxido de hidrogênio presente. Sugere-se que a catalase seja utilizada como coadjuvante ao procedimento clareador no intuito de eliminar o peróxido de hidrogênio residual e, dessa forma, minimizar a agressão provocada pelos produtos clareadores.

Para se entender a passagem de peróxido de hidrogênio através de membranas celulares, Antunes, Cadenas⁴ (2000), verificaram

que, quando as células são expostas ao peróxido de hidrogênio, a degradação deste produto é rápida no ambiente intracelular, o que proporciona a formação de um gradiente de concentração através do plasma. Segundos após a exposição celular ao peróxido de hidrogênio, constataram que a concentração de peróxido de hidrogênio extracelular foi maior do que aquela encontrada dissolvida no citoplasma. Quando existe, então, uma aplicação externa de peróxido de hidrogênio, há a ativação de um mecanismo intracelular de defesa.

Com o intuito de avaliar a atividade da peroxidase extraída de rábano silvestre e sua inativação pelo peróxido de hidrogênio, Hernandez-Ruiz et al.³¹ (2001) relataram que quando há ausência de um substrato intermediário doador de elétrons, o peróxido de hidrogênio atua tanto como agente oxidante ou redutor. A peroxidase extraída de rábano silvestre junto com o peróxido de hidrogênio favorece sua decomposição em oxigênio, da mesma forma que a catalase. Verificaram ainda que a produção de oxigênio pela peroxidase acontece em valores de pH superiores a 6,5, situação que torna a enzima mais resistente à inativação durante a incubação com o peróxido de hidrogênio. Concluíram, portanto, que este é um dos maiores mecanismos protetores da peroxidase extraída de rábano silvestre contra a inativação pelo peróxido de hidrogênio, à semelhança do que acontece in vivo com a catalase.

2.5 Substrato bovino

Vários pesquisadores estão usando dentes bovinos como substituto a dentes humanos. Nakamichi et al.⁴⁴ (1983) compararam a união adesiva de dentes humanos e bovinos a cimentos e resinas compostas. Foram testados os cimentos de policarboxilato, de ionômero de vidro, de fosfato de zinco e resina composta. Os materiais foram colocados em contato com as superfícies preparadas dos dentes e submetidos a testes de tração. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dentes humanos e bovinos para todos os materiais testados. Também foram estudados a profundidade dentinária e o tempo de armazenamento dos dentes. As camadas superficiais da dentina bovina apresentaram valores maiores de resistência adesiva quando comparadas às camadas mais profundas. Dentes bovinos armazenados por mais de seis meses apresentaram valores de resistência adesiva estatisticamente superiores quando comparados a dentes bovinos frescos nos grupos que empregaram resina composta e condicionamento ácido. Os autores concluíram que os dentes bovinos podem ser considerados substratos substitutivos aos dentes humanos em testes de adesão.

Saunders⁶⁰ (1988) verificou a força retentiva de quatro agentes de união comparando a dentina humana e bovina. Utilizou para esse trabalho pré-molares permanentes humanos e incisivos bovinos. Os dentes humanos foram cortados nas superfícies mesial e distal para expor uma área plana para o teste de adesão. Os ápices das raízes dos dentes bovinos foram removidos e as polpas extirpadas com limas endodônticas. As superfícies vestibulares das coroas foram cortadas para expor uma camada

superficial de dentina. As coroas de cada dente, tanto humano quanto bovino, foram montadas em um jig e as raízes foram embutidas em um molde de polimetilmetacrilato autopolimerizável de forma que as superfícies expostas de cada amostra ficasse na mesma posição no molde. As amostras ficaram em água deionizada a temperatura ambiente até o uso. Quinze amostras de cada espécime foram selecionadas para receber um dos 4 agentes de união testados (Scotchbond VLC, Topaz, Gluma e um agente experimental 3M). A aplicação dos agentes de união foi de acordo com as instruções dos fabricantes e a resina utilizada para o teste foi a mesma em todas as amostras (Prisma-Fil – Dentsply). A polimerização foi feita com a luz a 90° o mais próximo possível das amostras por 40s. As amostras foram submetidas ao teste de cisalhamento e o resultado expresso em MPa. Após os testes as amostras foram preparadas e analisadas através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores encontraram valores semelhantes em relação ao número de túbulos dentinários bovinos e não encontraram diferença entre a dentina coronária humana e bovina em relação à densidade de túbulos dentinários/mm².

Titley et al.⁷³ (1988) empregaram dentes bovinos num estudo que avaliou a influência do peróxido de hidrogênio na resistência adesiva de restaurações em resina composta. No seu estudo, cilindros de resina composta, híbrida ou de micropartículas, foram aderidos à superfície vestibular de esmalte de incisivos bovinos que tinham sido submetidos a quatro tipos de tratamentos diferentes: a) imersão em peróxido de hidrogênio 35% durante 60 minutos e condicionamento com ácido fosfórico 37% durante 60 segundos; b) imersão em solução salina (60min) e condicionamento com ácido fosfórico (60s); c) condicionamento com ácido fosfórico (60s) e imersão em peróxido de hidrogênio (60min); d) dentes condicionados durante 60 segundos e imersos em solução salina fisiológica. Os espécimes foram

armazenados em água a 37°C durante um ou sete dias antes do teste de tração e cisalhamento. Duzentos e cinquenta e seis dentes foram testados, avaliando também o prazo de armazenamento. Análise estatística demonstrou uma redução significativa na resistência adesiva de dentes expostos ao peróxido de hidrogênio quando comparado à imersão em solução salina. Análise em MEV demonstrou que a falha adesiva nestes casos ocorreu principalmente na interface resina-esmalte.

Com o intuito de aprofundar os conhecimentos referentes ao substrato bovino, Ruse et al.⁵⁹ (1990) realizaram uma análise de superfície em dentes bovinos intactos em comparação a dentes submetidos ao condicionamento ácido e clareamento. Incisivos bovinos foram divididos em grupos cujos tratamentos foram, respectivamente: a) imersão em peróxido de hidrogênio 35% durante 60 minutos; b) imersão em ácido fosfórico 37% durante 60 segundos; c) imersão em peróxido de hidrogênio durante 60 minutos seguido da imersão em água destilada durante 2 minutos e ácido fosfórico 37% durante 60 segundos; d) imersão em ácido fosfórico 37% durante 60 segundos seguido da imersão em água durante 2 minutos e peróxido de hidrogênio 35% durante 60 minutos. Dispersão por raios-X revelou que a exposição dos dentes ao peróxido de hidrogênio 35% aumentou o nível de nitrogênio sem maiores modificações na superfície de esmalte investigada. A aplicação de ácido fosfórico 37%, no entanto, promoveu diminuição dos índices de cálcio e fósforo, elevação dos níveis de carbono e nitrogênio. Embora o peróxido de hidrogênio não tenha promovido modificações significativas na composição elementar do esmalte, isso não significa que não tenham existido modificações químicas superficiais. Os autores sugerem, então, mais estudos para se poder avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio sobre a superfície do esmalte.

Tagami et al.⁶⁹ (1990) avaliaram a permeabilidade dentinária coronária bovina, através da condutância hidráulica. Utilizaram 36 incisivos inferiores bovinos íntegros. Os dentes foram armazenados em solução salina isotônica a 4°C contendo azida de sódio como preservador. Os dentes foram seccionados removendo os dois terços apicais das raízes. O tecido pulpar foi removido com uma lima, sem que tocasse nas paredes interiores da câmara pulpar. Os dentes foram colados com cianocrilato em peças de vidro contendo em seus centros tubos de 2 cm de aço inoxidável. Isto serviu para conectar o interior da câmara coronária ao dispositivo utilizado para mensurar a permeabilidade dentinária. A permeabilidade foi medida através da condutância hidráulica. Os autores verificaram que a permeabilidade da dentina coronária de incisivo bovino é de seis a oito vezes menor do que na dentina oclusal de terceiro molar humano, mas semelhante à dentina radicular humana.

Ruse, Smith⁵⁸ (1991) avaliaram o mecanismo de adesão de agentes adesivos à dentina bovina. Inicialmente conduziram o estudo da superfície dentinária em dispersão por raios-X com o objetivo de determinar o efeito de diferentes procedimentos na composição elementar da dentina e investigar a interação entre o substrato dentinário e o agente adesivo Scotchbond (3M). Em seguida, a composição elementar dentinária foi correlacionada à sua morfologia superficial em MEV. Dentes bovinos foram extraídos e preparados para a análise através de desgaste ou fratura dentinária, limpeza da dentina com peróxido de hidrogênio (30s), ácido clorídrico (60s) ou ácido fosfórico (60 ou 120s). Os resultados mostraram que a composição elementar da *smear layer* é similar à da dentina subjacente; a limpeza cavitária com peróxido de hidrogênio não produziu alterações na composição elementar da dentina; o condicionamento com ácido fosfórico promoveu uma desmineralização quase completa da superfície avaliada

expondo a matriz orgânica. Os resultados sugerem que os sistemas adesivos que empregam o condicionamento ácido interagem com os componentes orgânicos da dentina, promovendo um procedimento adesivo mais confiável. A investigação em MEV mostrou que a maioria das falhas decorrentes da fratura na interface adesiva foi de caráter coesivo. Concluíram que os dentes bovinos podem ser utilizados como substitutos de dentes humanos.

A liberação de peróxido de hidrogênio a partir do esmalte bovino clareado foi investigada por Adibfar et al.² (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 minutos, 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 significante 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. Sugerem outra investigação utilizando saliva como meio de imersão para verificar se a liberação do peróxido de hidrogênio acontece da mesma maneira.

Silva et al.⁶⁵, em 1996, compararam a resistência adesiva ao cisalhamento, tanto em esmalte quanto dentina, de dentes humanos, bovinos e suínos, após 24 horas ou sete dias de armazenamento. Discos de dentina e esmalte foram preparados a partir dos substratos e fixados a discos de resina composta (Prisma APH) empregando sistema adesivo (Prisma Universal Bond). Os corpos-de-prova foram submetidos a testes de cisalhamento e observaram-se que os valores de resistência adesiva em esmalte superaram os valores em dentina para todos os grupos testados. Os resultados mostram não haver, em esmalte, diferenças estatisticamente significantes na resistência adesiva de dentes humanos e bovinos. Os dentes suínos, porém, mostraram valores estatisticamente inferiores. Para os testes conduzidos em dentina, não houve diferença entre os três tipos de dentes testados. Os autores verificaram ainda não haver diferença estatisticamente significativa entre períodos de armazenamento estudados. Concluíram, portanto, que os dentes bovinos podem ser utilizados como substitutos a dentes humanos em trabalhos de pesquisa, quando armazenados por até sete dias.

No mesmo ano, o efeito do armazenamento de dentes bovinos foi analisado por Tonami et al.⁷⁴ (1996). Os autores avaliaram o efeito do armazenamento e fervura de dentes bovinos em relação à resistência à tração. Sessenta pares de incisivos bovinos foram divididos em grupos, sendo um dente de cada par utilizado após oito horas da exodontia permanecendo como controle. O outro dente do par foi armazenado em freezer durante uma ou quatro semanas previamente ao uso, ou submetido à fervura durante 45 minutos. A partir dos substratos de cada tratamento, fragmentos de dentina de 1mm de espessura foram preparados e tracionados em máquina Instron. Os dados obtidos mostram que não houve diferença na resistência à tração dos dentes bovinos após armazenamento

em freezer durante até quatro semanas. No entanto, após fervura, à resistência à tração foi significativamente reduzida. Os autores concluíram que os dentes bovinos podem ser armazenados por até um mês em freezer sem prejuízo às suas propriedades mecânicas.

Schilke et al.⁶¹ (2000), compararam o número e o diâmetro dos túbulos dentinários da dentina humana e bovina. Para isso utilizaram trinta terceiros molares humanos, trinta molares decíduos e trinta incisivos centrais bovinos e os examinaram em microscópio eletrônico de varredura. Os dentes foram seccionados próximo à junção amelo-cementaria. O tecido pulpar foi removido utilizando limas endodônticas. Os dentes humanos, bem como as coroas e raízes bovinas, foram cortados no sentido mesio-distal. As raízes dos dentes humanos e todas as metades linguais seccionadas foram descartadas. As superfícies dentinárias, no lado pulpar foram aplainadas com uma broca de polimento em baixa rotação e lixadas até que a concavidade pulpar estivesse completamente limpa. A smear layer foi removida ultrassonicamente usando EDTA 0,27M por 5min e hipoclorito de sódio 0,34M por 3min, seguido de lavagem em água por 5min. As dentinas foram então desidratadas em crescentes concentrações de álcool (30 - 100%), montadas em pedaços de alumínio e estocados em um dissecador de sílica-gel por uma noite. As amostras foram então metalizadas com ouro e analisadas em microscópio eletrônico de varredura. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa em relação ao número de túbulos dentinários na dentina coronária humana e bovina. Também demonstraram que não houve diferença significativa no número de túbulos dentinários/mm² e seus diâmetros nas camadas correspondentes da dentina coronária de decíduos humanos, molares permanentes e de incisivos centrais bovinos. Porém, afirmaram que o diâmetro desses túbulos dentinários, tanto na coroa

como na raiz de dentes bovinos, nas proximidades do LAD ou da polpa são maiores que na dentina humana coronária.

O efeito de agentes clareadores sobre a superfície do esmalte bovino foi avaliado por Kwon et al.³⁶ (2002) em microscopia eletrônica de varredura e espectrofotômetro. Cinco incisivos bovinos foram submetidos à leitura inicial e após imersão em solução de peróxido de hidrogênio 30% durante um, dois ou três dias. Inicialmente, os autores avaliaram a reflexão de luz do esmalte clareado em espectrofotômetro através da mensuração da cor dos dentes avaliados. Alterações superficiais dos dentes clareados e não clareados foram posteriormente estudadas em MEV. Os autores verificaram que a modificação na reflexão de luz do esmalte estava relacionada à modificação na coloração da estrutura, sendo a maior alteração percebida no primeiro dia de clareamento. Após um dia de imersão em peróxido de hidrogênio 30%, a modificação de cor pôde ser notada, inclusive, a olho nu. A comparação microscópica demonstrou alterações disformes e suaves, desenvolvendo vários graus de porosidade na superfície do esmalte bovino.

Correa et al.¹⁹ em 2003 fizeram um estudo micromorfológico comparativo entre a dentina bovina e a humana, para isto utilizaram dez incisivos humanos permanentes e quarenta incisivos bovinos permanentes. Os dentes foram lavados com solução fisiológica e tratados com azida sódica 0,2% para evitar crescimento bacteriano e degradação dos componentes orgânicos da dentina. Após isso foram seccionados em cortes transversais e longitudinais, tanto nos sentidos mesio-distal como vestibulo-lingual. Seguido estes procedimentos as amostras foram condicionadas com ácido fosfórico 37%, desidratadas com concentração crescente de etanol e metalizadas para análise em MEV, utilizando sempre o aumento de 2500 X. Os autores verificaram que a dentina bovina apresentou menor número de túbulos

dentinários/área próximo à região do limite amelo-dentinário e maior número de túbulos dentinários/área próximo à polpa, semelhante à dentina humana, além de túbulos dentinários com maior diâmetro próximo ao LAD e menor diâmetro próximo à polpa.

Em 2009, Carrasco-Guerisoli et al.¹⁵ utilizaram 30 dentes bovinos para avaliar alterações morfológicas na superfície do esmalte e da dentina. Discos padronizados de 4 X 4 mm contendo esmalte e dentina foram submetidos à técnica de clareamento interno, com ou sem utilização de luz, utilizando-se Opalescence Endo, Whiteness Super Endo, Opalescence Extra e Whiteness HP Maxx. Nos grupos controle foi utilizado perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio 10% ou nenhum agente clareador. Os fragmentos foram levados ao SEM para avaliação das alterações topográficas. Nas amostras clareadas com produtos com pH mais alto (Whiteness HPMaxx e Opalescence Xtra) e associação de fonte ativadora houve maior manutenção da ultraestrutura dentinária. Os autores concluem que o baixo pH associado ao peróxido de hidrogênio durante o clareamento interno pode desencadear alterações na ultraestrutura dentinária, e que o uso de produtos clareadores alcalinos com reduzido tempo de aplicação pode diminuir as alterações morfológicas.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo propõe avaliar quantitativamente os íons peróxido que passam da câmara pulpar para a superfície dentária externa, na dentina exposta, dentina recoberta por esmalte e dentina recoberta por cimento durante o clareamento interno.

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 obter a curva padrão. 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 tiossulfato de sódio 0,1N, adicionada gota a gota, até que a solução se tornou incolor, ou seja, até o consumo total do iodo dissolvido na solução. Durante este processo, ocorreram as seguintes reações (Figura 1).

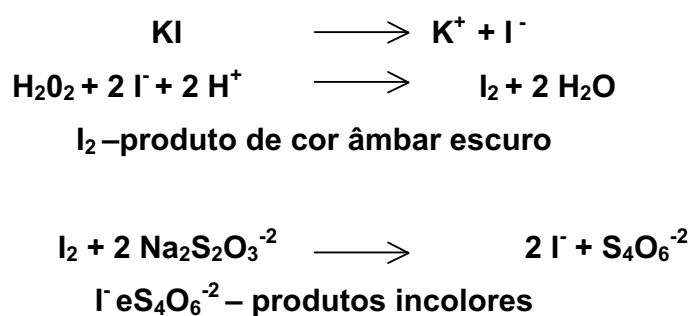


FIGURA 1 – Fórmula das reações ocorridas durante a iodometria.

4.1.1 Preparo das soluções

a) solução de iodeto de potássio: foram dissolvidos 16,6 g de iodeto de potássio (KI) 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. ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 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 foram dissolvidas 0,5g de amido solúvel p.a., obtendo-se uma solução de amido de concentração 5 g/l. A solução foi fervida durante cinco minutos e, após resfriamento, foi filtrada com algodão;

d) mistura ácida: em banho de gelo, foram dissolvidos 0,09 g de molibdato de amônio tetrahidratado p.a. $[(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 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 5 ml da solução de peróxido de hidrogênio 35% v/v (H_2O_2) para um balão volumétrico de 1000 ml contendo 250 ml 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 25 ml foi preenchida com a solução de tiosulfato de sódio 0,1N. Em um *erlenmeyer* contendo 200 ml de água deionizada foram transferidos 20ml da 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.

Na solução do *erlenmeyer* foi titulada com a solução de tiosulfato de sódio gota a gota, adicionando-se a solução de amido para confirmação até o ponto de viragem.

Paralelamente, foram efetuadas duas provas em branco, nas mesmas condições da amostra, porém substituindo a solução de peróxido de hidrogênio por solução tampão acetato.

A concentração da solução de peróxido de hidrogênio em g/l foi calculada empregando-se a fórmula (Figura 2):

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

FIGURA 2 – Fórmula do cálculo para encontrar a concentração da solução de peróxido de hidrogênio em g/l. 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.

A concentração encontrada foi de 387,78 g/l.

A padronização foi necessária para determinar a concentração exata da solução de peróxido de hidrogênio utilizado para o preparo de soluções padrão, que foram empregadas no levantamento da curva padrão.

4.2 Levantamento da curva padrão do peróxido de hidrogênio

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

a) solução de corante violeta leucocristal: foram pesados 30 mg do corante violeta leucocristal e, em seguida, dissolvidos em 60 ml de solução de ácido clorídrico (HCl 0,5% v/v), obtendo-se uma solução de concentração 0,5 mg/ml;

b) solução de tampão acetato: foi preparada em três etapas:

- preparo da solução de acetato de sódio 2M: 68,05 g de acetato de sódio foram dissolvidos em 250 ml de água deionizada,
- preparo da solução de ácido acético 2M: 18,595 ml de ácido acético glacial concentrado p.a. foram diluídos em 250 ml de água deionizada,
- 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.

c) solução de peroxidase: 10mg de peroxidase extraída de rábano silvestre foram dissolvidos em 10 ml de água deionizada, obtendo-se uma solução de concentração 1 mg/ml;

d) soluções padrões de peróxido de hidrogênio: 1,29ml da solução concentrada de peróxido de hidrogênio padronizada foi diluída em 100ml com solução de tampão acetato (2M, pH 4,5) obtendo-se uma solução contendo 5000 µg/ml de peróxido de hidrogênio. A seguir, 1ml desta solução foi novamente diluído em 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 0,50 a 4,50µg de peróxido de hidrogênio.

Para obter soluções diluídas de peróxido de hidrogênio, utilizou-se a seguinte fórmula (Figura 3):

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

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

Explica-se melhor o preparo da solução de peróxido de hidrogênio da seguinte forma:

Para preparar 100ml da solução de peróxido de hidrogênio em uma concentração de 5000 µg/ml, realizou-se uma regra de três simples (Figura 4) onde,

$$\begin{array}{rcl} 5000 \text{ } \mu\text{g} & \text{-----} & 1\text{ml} \\ X & \text{-----} & 100 \text{ ml} \\ X = 500.000\mu\text{g}/ 100 \text{ ml, o que representa} \\ X= 0,5\text{g} / 100\text{ml} \end{array}$$

FIGURA 4 – Fórmula utilizada para preparar 100ml da solução de peróxido de hidrogênio em uma concentração de 5000 µg/ml.

Então foi necessário 0,5g de solução de peróxido de hidrogênio p.a.

Como, através da padronização do peróxido de hidrogênio conhecemos que a concentração real do peróxido foi de 387,78 g/l,

$$\begin{array}{rcl} 387,78 \text{ g} & \text{-----} & 1000 \text{ ml} \\ 0,5 \text{ g} & \text{-----} & X \\ X = 1,29 \text{ ml.} \end{array}$$

FIGURA 5 – Fórmula utilizada para conhecer o volume necessário de peróxido de hidrogênio para preparar 100ml de solução.

O volume de peróxido de hidrogênio necessário para preparar 100 ml de solução foi de 1,29 ml (Figura 5).

Foram então pipetados 1,29 ml da solução de peróxido p.a. e completada com a solução tampão acetato até a marca de 100ml.

Para minimizar o erro de se trabalhar com pequenas quantidades, foi preparada uma solução 100X mais diluída. Para isso foi utilizada a fórmula (Figura 6):

$$C_i.V_i = C_f. V_f.$$

$$C_i.V_i = C_f. V_f. \longrightarrow 5000\mu\text{g} . V_i = 50\mu\text{g/ml} . 100\text{ml} \longrightarrow V_i = 1 \text{ ml}$$

FIGURA 6 – Fórmula aplicada para diluir a solução em 100X.

Foi, então, pipetado 1ml da solução de 5000µg/ml e completada com solução tampão acetato até 100ml. Tendo, assim, uma solução de 50µg/ml.

A partir dessa solução montou-se um quadro para padrões com 0,50; 1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00; 3,50; 4,00 e 4,50µg/ml dessa solução, em cada tubo de ensaio para mensuração da absorbância (Quadro 1).

4.2.1 Mensuração da absorbância

Para o registro da absorbância (densidade óptica) foram utilizadas 8 pontos de mensuração para se obter maior confiabilidade, sendo eles **0,50** µg/ml; **1,00** µg/ml; **1,50** µg/ml; **2,00** µg/ml; **2,50** µg/ml; **3,00** µg/ml;

3,50 µg/ml; 4,00 µg/ml e 4,50µg/ml. As soluções foram colocadas, em tubos de ensaio individuais, de acordo com as quantidades descritas no Quadro 1.

Ex: Para conseguir as concentrações referentes aos pontos de mensuração, prosseguiu-se as seguintes diluições (Figura 7):

50µg/ml (padrão) 1ml

2µg/ml X ml

X=0,040 ml

X= 40µl da solução de peróxido de hidrogênio.

FIGURA 7 – Fórmula utilizada para conseguir as concentrações referentes aos pontos de mensuração

Da mesma forma obteve-se os demais pontos para a curva padrão.

Quadro 1- Soluções padrão utilizadas no levantamento da curva padrão

Pontos de mensuração	Sol. Padrão de Peróxido 50µg/ml	Tampão até 1000µl*	Violeta Leucocristal	Peroxidase	Água Deionizada
0,50µg/ml	10µl	990µl	100µl	50µl	1850µl
1,00µg/ml	20µl	980µl	100µl	50µl	1850µl
1,50µg/ml	30µl	970µl	100µl	50µl	1850µl
2,00µg/ml	40µl	960µl	100µl	50µl	1850µl
2,50µg/ml	50µl	950µl	100µl	50µl	1850µl
3,00µg/ml	60µl	940µl	100µl	50µl	1850µl
3,50µg/ml	70µl	930µl	100µl	50µl	1850µl
4,00µg/ml	80µl	920µl	100µl	50µl	1850µl
4,50µg/ml	90µl	910µl	100µl	50µl	1850µl

*Volume da solução que foi colocada no reservatório até preencher a marca de 1000µl, para quantificação do peróxido de hidrogênio.

Em seguida todos os tubos foram preenchidos com água deionizada até a marca de 3ml, para se ter volume necessário para uso no espectrofotômetro.

Paralelamente às amostras, foram realizadas duas provas em branco, nas mesmas condições citadas anteriormente, porém substituindo-se a solução de peróxido de hidrogênio diluída por solução tampão acetato 2M, pH 4,5.

Para aferir a densidade óptica, as soluções foram colocadas em cubetas de vidro para em seguida, serem levadas a um espectrofotômetro a 596nm (Mottola et al.⁴³, 1970)(Figura 8).

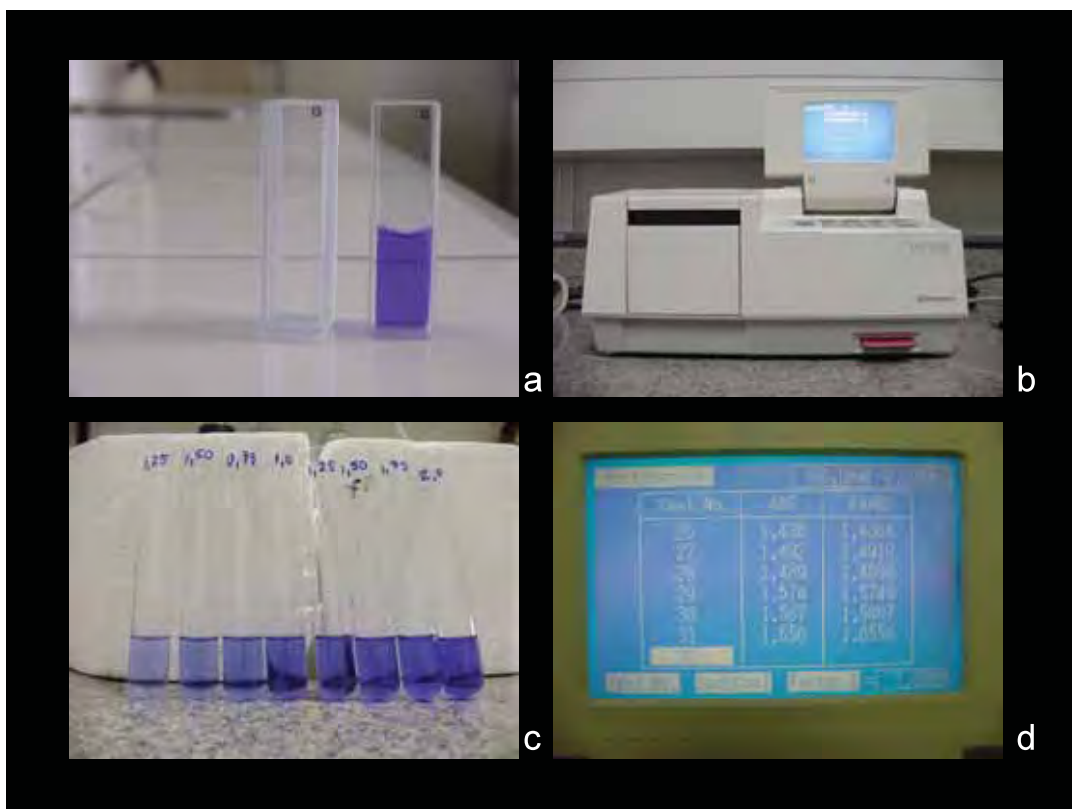


FIGURA 8 – Aparatos utilizados para medida da densidade óptica das soluções: a) Cubetas de vidro do espectrofotômetro; b) vista do espectrofotômetro; c) aparência das soluções nas sucessivas concentrações a serem mensuradas pelo espectrofotômetro; d) imagem de tela do espectrofotômetro com os valores das absorvâncias.

Para cada concentração a mensuração da absorvância foi realizada em duplicata obtendo-se a média aritmética dos dois pontos. Desta média, subtraiu-se a média dos resultados colhidos da mensuração do branco, com o objetivo de se conseguir mais fidelidade do resultado.

Os resultados lidos pelo espectrofotômetro estão representados no Quadro 2.

Quadro 2 – Valores da absorbância das diferentes concentrações das soluções de peróxido de hidrogênio

Conc. H ₂ O ₂ μg/ml	Abs 1	Abs 2	Abs média	Abs média menos o branco
Branco	0,122	0,133	0,128	-
0,50	0,471	0,498	0,485	0,357
1,00	0,795	0,794	0,795	0,667
1,50	1,148	1,220	1,184	1,056
2,00	1,498	1,476	1,487	1,359
2,50	1,699	1,745	1,722	1,594
3,00	2,039	2,107	2,073	1,945
3,50	2,280	2,301	2,291	2,163
4,00	2,474	2,498	2,486	2,358
4,50	2,903	2,873	2,888	2,760

Os valores das concentrações utilizadas (eixo y) e de absorbância (eixo x) relativas às concentrações foram inseridos em um gráfico realizado pelo programa Graph Pad Prism, que realiza uma regressão linear dos pontos encontrados, representados por uma reta. Por ser uma

reta, pode-se calcular a média dos pontos de absorvância pelo cálculo da tangente de θ (cateto oposto sobre cateto adjacente)(Figura 9).

CURVA PADRÃO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

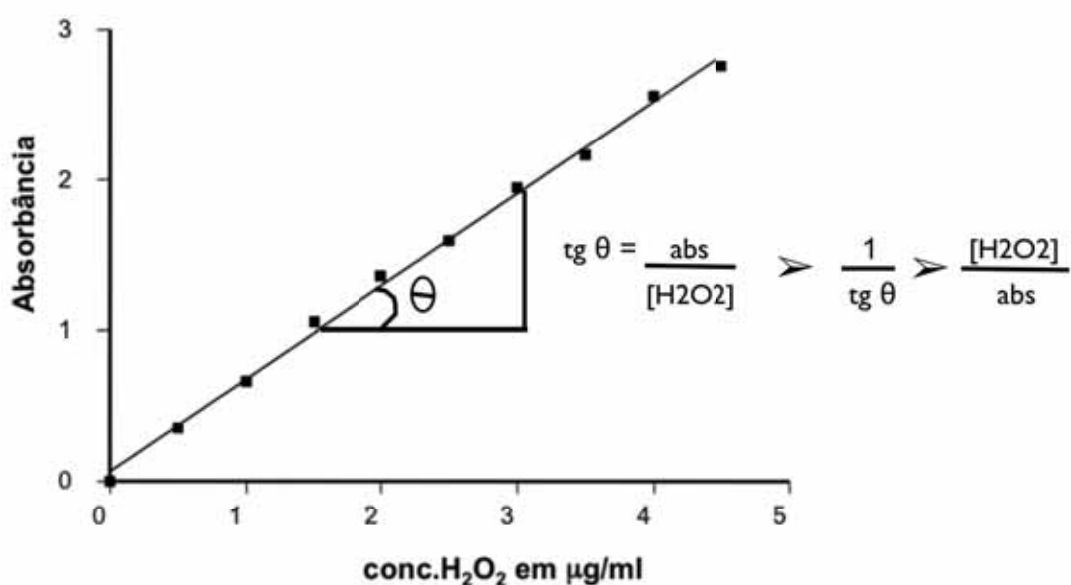


FIGURA 9 - Gráfico da regressão linear dos pontos de absorvância das concentrações utilizadas no Quadro 2.

Portanto, um sobre a tangente de θ representa a média dos valores da absorvância.

Para se obter o fator de calibração (F_c), que corresponde à razão entre a concentração da solução padrão de peróxido de hidrogênio e sua respectiva absorvância, realizou-se a seguinte equação (Figura 10)

$$F_c = \frac{[\text{solução padrão}]}{\text{Absorbância}}$$

FIGURA 10 – Fórmula utilizada para se obter o fator de calibração (Fc), que corresponde à razão entre a concentração da solução padrão de peróxido de hidrogênio e sua respectiva absorbância.

O fator de calibração (Fc) médio foi utilizado para calcular a concentração de peróxido de hidrogênio contido no espécime de cada grupo experimental.

Para se obter a média de todos os pontos da curva padrão, calcula-se um fator de calibração, como no exemplo:

$$\begin{array}{ll} \text{Absorbância amostra} & \text{-----} \quad [\text{amostra}] \\ \text{Absorbância padrão} & \text{-----} \quad [\text{padrão}] \end{array}$$

Portanto, para conhecer a [amostra], realiza-se o seguinte cálculo (Figura 11):

$$[amostra] = \frac{\text{Abs amostra} - \text{branco}}{\text{Abs padrão}} \times \frac{1}{\text{tg}\theta} = \text{Fator de calibração.}$$

Então, $[amostra] = (\text{Abs amostra} - \text{branco}) \times Fc.$

FIGURA 11 – Fórmula da equação utilizada para conhecer a concentração da amostra a partir da mensuração da absorbância.

De acordo com o programa Graph Pad Prism o Fc da curva obtida foi de 1,627.

4.3 Seleção, armazenamento e preparo dos dentes

Foram selecionados 50 dentes incisivos laterais bovinos, recentemente extraídos de animais jovens e pertencentes à mesma faixa etária, limpos e conservados em freezer até a sua utilização.

Foram realizadas aberturas coronárias na face lingual dos dentes e a câmara pulpar irrigada com solução salina fisiológica. As raízes foram então cortadas no sentido horizontal, com discos de carborundum em baixa rotação, a 5 mm da junção amelo-cementária. A remoção do tecido pulpar foi executada com lima tipo Hedstøen (Dentsply Maillefer – Ballaigues-Suiça). Conforme esquematizado na Figura 12 foi confeccionado um tampão de 2 mm de espessura com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R – SS White) selando a entrada do canal. Este tampão foi posicionado a 2,0mm da junção cemento-esmalte mais apical, e a extremidade apical dos espécimes

foi isolada externamente com resina composta fotopolimerizável (TPH – Dentsply – USA).

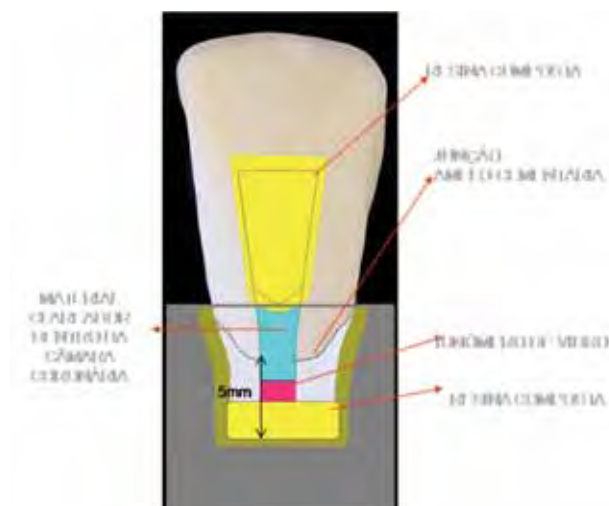


FIGURA 12 – Preparo dos espécimes.

4.4 Divisão dos grupos e confecção das áreas a serem avaliadas

Uma vez que pretende-se avaliar a passagem do peróxido liberado a partir do agente clareador colocado na câmara pulpar para a superfície dentária externa, foi padronizada a área da superfície dentária externa, a ser mantida exposta para avaliar esta passagem através da dentina ou da dentina recoberta por esmalte ou recoberta por cimento. Para isto, foram utilizadas matrizes adesivas, redondas, com 6 mm de diâmetro que serviram para delimitar a superfície externa dos espécimes a ser mantida exposta para a passagem do peróxido.

Assim, os espécimes foram divididos em 5 grupos:

GE (Esmalte n=10): matriz fixada na superfície do esmalte vestibular próximo a junção amelo-cementária (Figura 13);

GC (Cimento n=10): matriz colocada na superfície do cimento imediatamente abaixo da junção amelo-cementária na face proximal (Figura 14);

GD (Dentina n=10): foi realizada uma cavidade vestibular com 6mm de diâmetro, 2mm de profundidade a fim de manter toda a parede axial em dentina. Nesta área foi fixada, sobre a dentina, a matriz circular com 6mm de diâmetro (Figura 15);

GC1 (Controle 1 n=10): câmara pulpar preenchida com água deionizada, sem delimitação da superfície externa e sem impermeabilização externa;

GC2 (Controle 2 n=10): agente clareador na câmara pulpar e total impermeabilização externa.



FIGURA 13 – GE – matriz fixada para delimitação da área, na superfície do esmalte.



FIGURA 14 – GC – matriz fixada para delimitação da área, na superfície do cimento.



FIGURA 15 – GD – matriz fixada para delimitação da área, no interior da cavidade, sobre a dentina exposta.

O agente clareador utilizado foi o peróxido de hidrogênio 35% (Opalescence Endo, Ultradent – South Jordan – Utah – USA), que foi levado à cavidade com pontas indicadas pelo fabricante. O agente clareador foi aplicado preenchendo a câmara pulpar, até 2mm da margem cavo superficial e protegido com pedaços de filtro de papel (Filtro de papel 103 – Carrefour – Celupa Industrial Celulose e Papel Guaíba Ltda. – Guaíba - RS). Em seguida, as cavidades de acesso foram seladas, recebendo uma camada com resina composta (TPH – Dentsply – USA), compatível com o tamanho de cada cavidade, com o intuito de proteger o material clareador do condicionador ácido e adesivo dentinário. Após a polimerização desta primeira camada realizou-se o condicionamento com ácido fosfórico 37% (Alpha Etch gel – DFL), sistema adesivo (Single Bond Adhesive – 3M) e pela técnica incremental, uma nova camada da mesma resina composta foi inserida para o selamento total da cavidade (Figura 16).

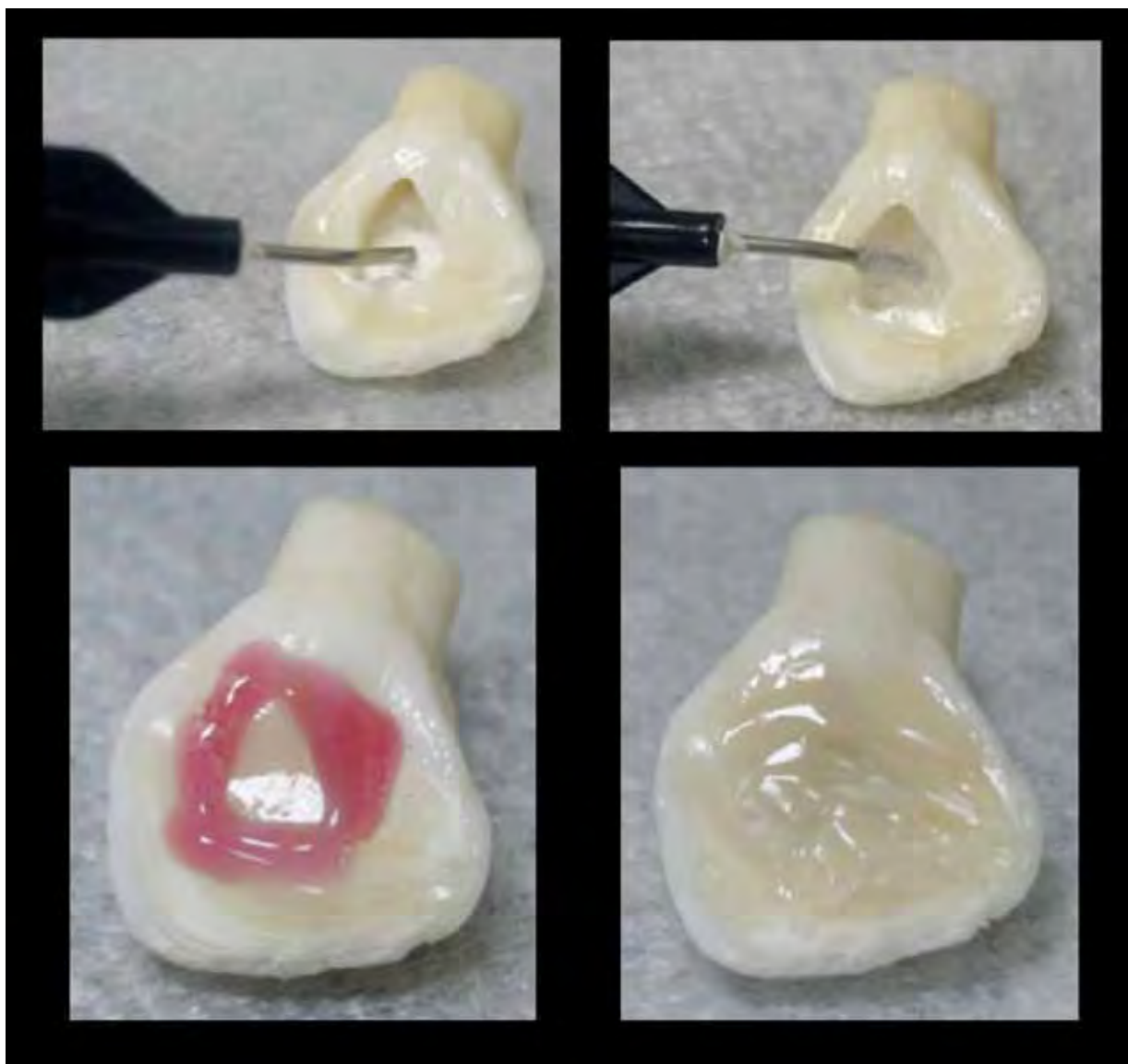


FIGURA 16 – (A): adaptação da ponta de colocação do gel clareador na abertura coronária do espécime; (B): preenchimento da câmara com o gel clareador a ser analisado; (C): após a primeira camada de resina composta, realização do condicionamento ácido; (D): colocação da segunda camada de resina composta para o selamento da abertura coronária dos espécimes.

Após esta fase os espécimes receberam a impermeabilização externa com esmalte para unhas em toda a superfície do dente.

Em seguida, as matrizes foram removidas deixando uma área de 6mm de diâmetro exposta em cada amostra (Figura 17).



FIGURA 17 – Imagens ilustrativas dos dentes impermeabilizados com esmalte colorido para ilustrar as áreas a serem estudadas expostas.

Em seguida, cada dente foi colocado no interior de placas de cultura celular de 24 poços (TPP – Suíça), sendo que cada poço continha 1000µl de solução tampão acetato 2M (pH 4,5), cobrindo visivelmente a área exposta da impermeabilização. Os espécimes foram mantidos por sete dias em estufa microbiológica a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa 100%.

Após sete dias, a solução tampão de acetato foi removida do reservatório, através de micropipetas e transferida a um tubo de ensaio.

Foram feitas mais duas lavagens do reservatório com água deionizada que também foi transferida para o mesmo tubo de ensaio. Em seguida foram adicionados no tubo 100µl do corante violeta leucocristal, na concentração de 0,5mg/ml, e 50µl de peroxidase extraída de rábano silvestre a 1mg/ml. Após isso, foi adicionada água deionizada à mistura até completar 3ml, resultando em uma solução de coloração azul (Figura 18). A mensuração da absorbância das amostras experimentais foi conduzida da mesma maneira descrita no levantamento da curva padrão.



FIGURA 18 – Imagem de passos laboratoriais da transferência das soluções e adição da enzima e corante.

4.5 Quantificação do peróxido que passou para a superfície dentária externa

Para se calcular a quantidade de peróxido de cada espécime, foi multiplicado o valor da absorbância do espécime pelo fator de calibração (Fc), conforme Figura 19.

$$\text{[espécime]} = \text{absorbância do espécime} \times \text{fator de calibração.}$$

FIGURA 19 – Fórmula utilizada para calcular quantidade de peróxido de cada espécime

4.6 Método estatístico

Os dados colhidos foram submetidos a análise estatística pelos testes de Kruskal Wallis e Dunn-Bunferroni

5 RESULTADO

5.1 Quantificação do peróxido

O Quadro 3 mostra os valores referentes as mensurações das absorbâncias emitidas pelo espectrofotômetro.

Quadro 3 - Valores em absorbância emitido pelo espectrofotômetro na leitura dos grupos experimentais

Absorbância					
	DENTINA	ESMALTE	CEMENTO	CONTROLE 1	CONTROLE 2
1	0.687	0.737	0.644	0.135	0.153
2	0.594	0.713	0.651	0.145	0.155
3	0.594	0.650	0.710	0.181	0.155
4	0.641	0.615	0.660	0.131	0.147
5	0.594	0.661	0.522	0.128	0.148
6	0.636	0.968	0.486	0.142	0.14
7	0.617	0.634	0.707	0.14	0.13
8	0.616	0.689	0.618	0.154	0.132
9	0.729	0.898	0.601	0.142	0.137
10	1.501	0.599	1.130	0.189	0.132
MEDIA Abs	0,7209	0,7164	0,6729	0,1487	0,1429

Para se encontrar o resultado da quantificação dos íons em $\mu\text{g/ml}$, utilizou-se o valor informado pelo espectrofotômetro, subtraiu-se o branco e multiplicou-se pelo FC (fator de calibração); Onde de acordo com o levantamento da curva padrao, o branco = 0,128 e o FC = 1,627.

O Quadro 4 mostra os valores, em $\mu\text{g/ml}$, de peróxido nos diferentes grupos do estudo.

Quadro 4 - Valores de peróxido em $\mu\text{g/ml}$, obtidos nos grupos avaliados

Resultados $\mu\text{g/ml}$					
					
	DENTINA	ESMALTE	CEMENTO	CONTROLE 1	CONTROLE 2
1	0.909493	0.990843	0.839532	0.011389	0.040675
2	0.758182	0.951795	0.850921	0.027659	0.043929
3	0.758182	0.849294	0.946914	0.086231	0.043929
4	0.834651	0.792349	0.865564	0.004881	0.030913
5	0.758182	0.867191	0.641038	0	0.03254
6	0.826516	1.36668	0.582466	0.022778	0.019524
7	0.795603	0.823262	0.942033	0.019524	0.003254
8	0.793976	0.912747	0.79723	0.042302	0.006508
9	0.977827	1.25279	0.769571	0.022778	0.014643
10	2.233871	0.766317	1.630254	0.099247	0.006508
MEDIA	0,9646483	0,9573268	0,8865523	0,0336789	0,0242423

A Figura 20 ilustra através do gráfico de barras as quantidades de peróxido (em $\mu\text{g/ml}$) nos grupos avaliados.

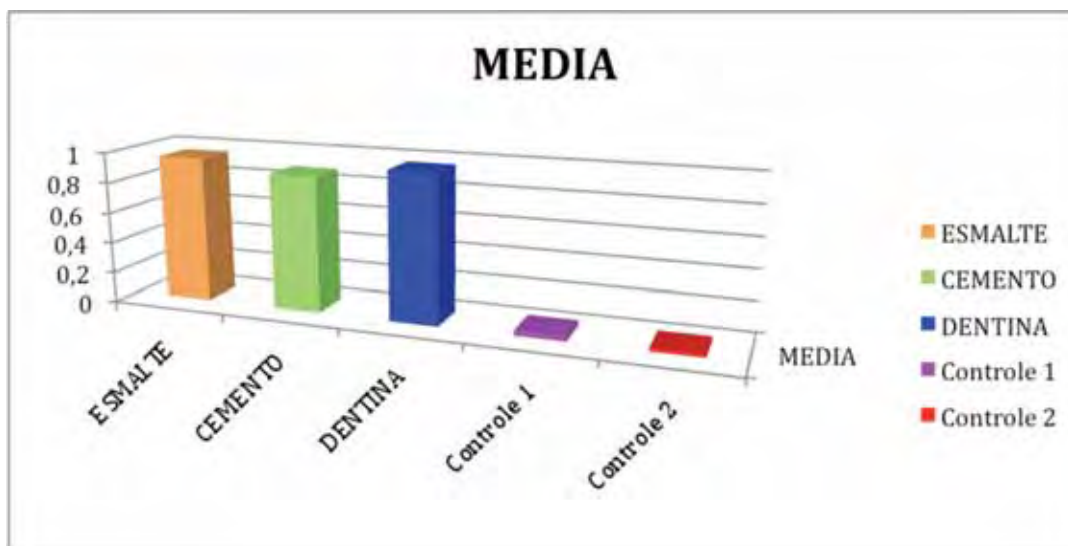


FIGURA 20 – Gráfico representativo das quantidades de íons que atingiu a superfície externa nos diferentes grupos.

5.2 Análise estatística

A Tabela 1 e as Figuras 21 e 22, representam as análises descritivas da distribuição média dos valores de peróxido obtidos pela passagem através da dentina exposta, dentina/esmalte e dentina/cimento.

Tabela 1 - Análise descritiva estatística dos diferentes grupos do estudo

Variable	N	Mean	StDev	CoefVar(%)	Minimum	Maximum
DENTINA	10	0.965	0.452	46.82	0.758	2.234
ESMALTE	10	0.9573	0.1999	20.88	0.7663	1.3667
CEMENTO	10	0.8866	0.2864	32.30	0.5825	1.6303
CN	10	0.0337	0.0334	99.32	0.0000	0.0992
CP	10	0.02424	0.01613	66.55	0.00325	0.04393

Ao aplicar o teste Kruskal-Wallis, para verificar a existência de diferença entre os grupos experimentais verificou-se que não houve diferenças significantes entre os grupos GE; GD e GC ($p=0,354$) (Figura 23).

Para comparar os grupos experimentais com os controles, utilizou-se o teste de Dunn-Bonferroni, o qual mostrou haver diferenças significantes entre os grupos GE, GD e GC e os controles GC1 e GC2 ($p=0,017$).

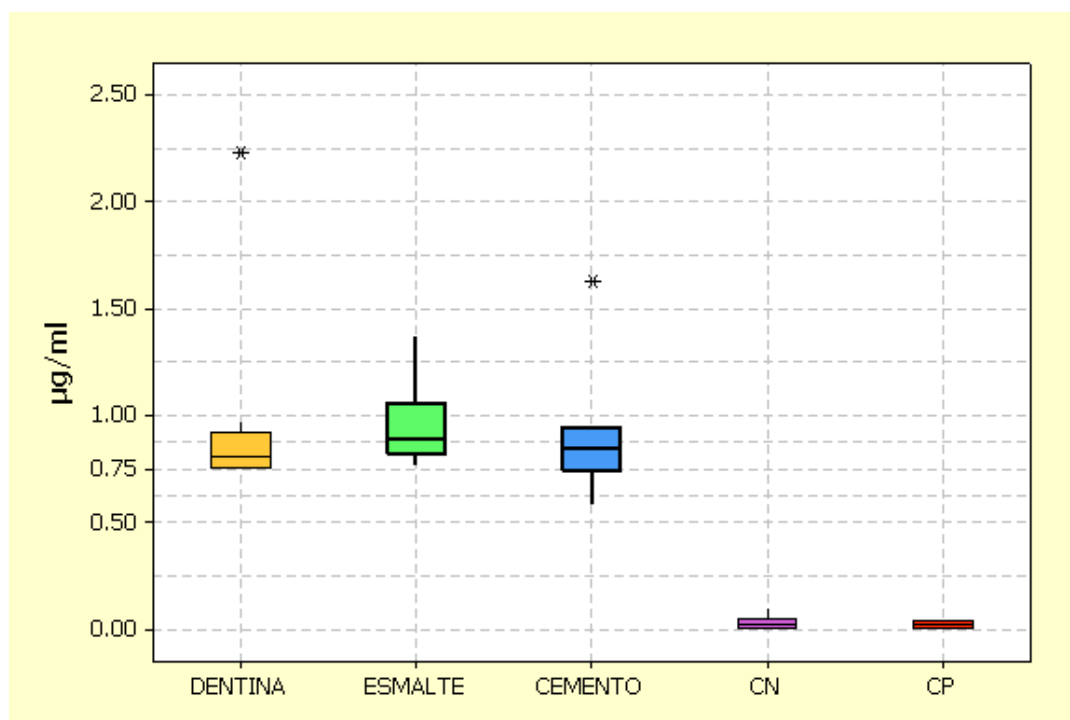


FIGURA 23 - Box plot dos valores de penetração de peróxido obtidos segundo os grupos

Kruskal-Wallis estatística (KW) = 2.0767
P-Valor = 0.3540

Ao comparar os 3 grupos experimentais em relação ao grupo controle foi realizado o teste de Dunn-Bonferroni, o qual mostra diferença estatística entre os experimentais e o controle.

Teste de Dunn-Bonferroni

3 grupos experimentais em relação ao Controle

Comparisons:	3
Ties:	3
Family Alpha:	0.05
Bonferroni Individual Alpha:	0.017
Bonferroni Z-value (2-sided):	2.394

Z-valor calculado vs. Z-valor Critico P-valor

DENTINA	3.40546	>= 2.39398 *	0.00070 <0.017
ESMALTE	4.43857	>= 2.39398 *	0.00001 <0.017
CEMENTO	3.63504	>= 2.39398 *	0.00030 <0.017

6 DISCUSSÃO

6.1 Da metodologia

Para realização da curva padrão, utilizou-se o peróxido de hidrogênio líquido e, para medir a quantidade de liberação de oxigênio liberado a partir de uma solução de peróxido de hidrogênio é necessário conhecer a concentração do peróxido de hidrogênio a ser testado. A padronização do peróxido de hidrogênio serviu para certificar a real concentração da solução no ato do levantamento da curva padrão.

A padronização da solução de peróxido de hidrogênio utilizada no preparo das soluções padrões foi feita através de iodometria. A iodometria foi eleita por se ter maior afinidade à técnica, por ser conhecida através de experimentos realizados previamente no Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP e, por ser o mecanismo empregado pelo próprio fabricante do peróxido de hidrogênio (Peróxidos do Brasil Ltda.) para determinar a concentração das soluções.

Para quantificar o peróxido de hidrogênio utilizou-se o método preconizado por Mottola et al.⁴³ (1970) por se tratar de um método preciso, conveniente e de alta sensibilidade. Baseia-se na formação do cristal violeta, a partir da sua base leuco, processo que é catalizado pela

enzima peroxidase extraída de rábano silvestre. Devido à alta absorbância em molaridade do cristal violeta, torna-se possível aplicar diretamente o método descrito mesmo para quantidades muito pequenas de peróxido de hidrogênio, na casa de submicrogramas. A peroxidase possibilita uma reação rápida mesmo em baixas concentrações.

Através deste método, a mistura final da reação do peróxido de hidrogênio, peroxidase e violeta leucocristal adquire uma coloração violeta, variando sua intensidade de acordo com a quantidade de peróxido presente na mistura. Ao medir a intensidade da coloração violeta pode-se saber a quantidade de peróxido de hidrogênio da mistura. Esta mensuração é feita através de um espectrofotômetro, regulado com um comprimento de onda de 596nm, aparelho capaz de captar estas variações de cor.

O comprimento de onda de 596nm foi estabelecido por Mottola et al.⁴³ (1970) a partir do levantamento de medições repetidas das soluções padronizadas, variando-se o comprimento de onda utilizado. Os resultados obtidos foram inseridos numa curva, onde os autores verificaram que a 596nm houve o máximo de absorbância. Esta metodologia foi usada por diversos autores como Bowles, Ugwuneri¹⁰, (1987), Adibfar et al.² (1992), Hanks et al.²⁸ (1993), Thitinantapan et al.⁷¹ (1999), Gokây et al.²⁵ (2000) e Benetti et al.⁵ (2004).

Existem outros métodos para se quantificar peróxidos em espectrofotômetro, como a oxidação de íons metálicos, oxidação do íon iodo, oxidação de compostos orgânicos ou pela produção de fluorescência. Na maioria destes métodos, no entanto, a sensibilidade está limitada a soluções contendo mais do que 10^{-5} M de peróxido (Mottola et al.⁴³, 1970). Em alguns métodos, como no caso da fluorescência, são necessários equipamentos específicos para se garantir maior sensibilidade.

Como o espectrofotômetro mede a intensidade de cor das soluções e esta intensidade está relacionada com a quantidade de peróxido de hidrogênio na mistura, é preciso correlacionar o valor expresso pelo espectrofotômetro em $\mu\text{g/ml}$. Assim pode-se saber, de acordo com a absorbância, a quantidade em $\mu\text{g/ml}$ de peróxido na mistura.

Para maior confiabilidade no resultado da absorbância (densidade óptica), valor expresso pelo espectrofotômetro, foram utilizados 8 pontos de mensuração, sendo eles $0,50\mu\text{g/ml}$, $1,00\mu\text{g/ml}$, $1,50\mu\text{g/ml}$, $2,00\mu\text{g/ml}$, $2,50\mu\text{g/ml}$, $3,00\mu\text{g/ml}$, $3,50\mu\text{g/ml}$, $4,00\mu\text{g/ml}$ e $4,50\mu\text{g/ml}$. Assim pôde-se construir uma curva (curva padrão), onde cada concentração acima descrita apresentou um valor de absorbância. Dessa forma pôde-se relacionar os valores expressos pelo espectrofotômetro em $\mu\text{g/ml}$. Os valores de absorbância, referentes às concentrações acima descritas, foram inseridos em um gráfico a fim de obter o fator de calibração (F_c), que corresponde à razão entre a concentração da solução padrão e sua respectiva absorbância. O fator de calibração (F_c) médio foi utilizado para calcular a concentração de peróxido contido nas amostras experimentais.

A mensuração da quantidade de peróxido que passou da câmara pulpar para a face externa dos espécimes foi conseguida captando esta substância por uma solução tampão de acetato, na qual os espécimes ficaram imersos durante o experimento, em um modelo modificado pelo proposto por Rotstein⁵³ (1991). Para que o peróxido, que extravasasse da câmara pulpar para a solução tampão, não ficasse diluído em quantidades diferentes de solução tampão, padronizou-se a quantidade de solução tampão.

Uma etiqueta de 6mm de diâmetro foi colada nas distintas áreas a serem estudadas para se padronizar as áreas de peróxidos expostas ao meio, sendo assim, pode-se comparar a quantidade de peróxido que

passa pelas estruturas dentárias. As etiquetas foram coladas próximo a junção amelo-cementária, pois é o local preferencial de passagem dos agentes clareadores de acordo com Bonfim et al.⁷ (1998); devido à pressão exercida pelo oxigênio liberado, da decomposição tanto do peróxido de hidrogênio quanto do perborato de sódio, aumenta a pressão interna na câmara pulpar, forçando a saída dos agentes clareadores pelos túbulos dentinários Chng et al.¹⁷ (2002). Dessa forma, autores como Dezotti et al.²¹ (2002) observaram que o material clareador passa pela estrutura dentária e após o procedimento clareador a permeabilidade dentinária se mostra aumentada. Hegedüs et al.³⁰ (1999) acreditam que estas alterações são resultado do baixo peso molecular dos agentes clareadores, que lhes confere a capacidade de penetração através das estruturas dentárias.

Os espécimes receberam barreiras cervicais com cimento de ionômero de vidro, pois de acordo com Friedman et al.²³ (1988) e Rotstein et al.⁵⁶ (1991) bases protetoras colocadas na superfície interna da dentina radicular podem reduzir a ocorrência de reabsorção cervical externa da raiz, impedindo a passagem de materiais clareadores da câmara pulpar para a superfície externa radicular. Os mesmos autores em um outro trabalho em 1991 demonstraram que os materiais utilizados como bases protetoras (óxido de zinco e eugenol, IRM, resina composta e cimento de ionômero de vidro) foram igualmente eficazes na prevenção da infiltração radicular de peróxido de hidrogênio, quando a espessura desta base excedia 1mm. Entretanto, Oliveira et al.⁴⁷ em 2003, verificaram que o melhor material para ser utilizado como base (tampão) cervical foi o cimento de ionômero de vidro, sem diferença estatisticamente significativa ao comparar o cimento de ionômero de vidro modificado por resina com o cimento de ionômero de vidro convencional, e que nenhum material é capaz de prevenir a infiltração do agente clareador da câmara pulpar para a superfície radicular externa. No

presente estudo, a impermeabilização da extremidade radicular foi realizada com resina composta para evitar que tanto o agente clareador que porventura ultrapassasse a barreira de cimento de ionômero de vidro, não saísse para o reservatório e nem a solução do reservatório penetrasse pela dentina da superfície radicular seccionada. As barreiras foram colocadas a 2mm apicalmente à junção amelo-cementária como sugerem Costas, Wong,²⁰ em 1991 e Oliveira et al.⁴⁷ em 2003. Ainda fez-se uma impermeabilização com esmalte para unhas para se assegurar que a penetração do peróxido ocorresse somente nas áreas expostas. Optou-se por esmalte para unhas de coloração incolor, pois a cor do esmalte poderia interferir no resultado da absorbância.

Os materiais clareadores mais utilizados atualmente para clarear dentes tratados endodonticamente são os peróxidos de hidrogênio e carbamida e o perborato de sódio, associado à água destilada, solução fisiológica ou peróxido de hidrogênio. Todas as formulações de peróxido de carbamida ou de perborato de sódio sofrem decomposição química transformando-se em peróxido de hidrogênio. Sendo assim, neste trabalho buscou-se utilizar diretamente um peróxido de hidrogênio. A concentração de 35% foi eleita, pois se trata de um peróxido de alta concentração, a utilização de uma menor concentração poderia prejudicar a mensuração efetiva, uma vez que pouca quantidade de peróxido penetrado poderia ficar diluído na solução tampão de acetato. Além disso, a concentração de 35% é frequentemente utilizada nos procedimentos clínicos de clareamento.

O material clareador testado neste trabalho foi colocado no interior das câmaras pulpares, protegido com pedaços de filtro de papel, seguido de uma camada de resina composta sem condicionamento ácido e sistema adesivo prévios para que não interferissem no agente clareador. Após polimerização desta primeira camada, realizou-se o condicionamento

ácido e sistema adesivo para posteriormente ser inserida a segunda camada de resina composta, garantindo um vedamento mais hermético.

Dentes bovinos têm sido constantemente utilizados nas pesquisas odontológicas devido à facilidade de obtenção aliada às dificuldades de obtenção de dentes humanos e das restrições éticas relacionadas ao uso destes dentes. Investigações prévias estabeleceram a praticidade da utilização de dentes bovinos em testes de resistência adesiva de resinas compostas (Nakamichi et al.⁴⁴, 1983; Titley et al.⁷³, 1988; Ruse et al.⁵⁹, 1990; Ruse, Smith⁵⁸, 1991; Silva et al.⁶⁵ 1996; Owens et al.⁴⁹, 1998). Além disso, alguns autores mencionaram não haver diferença significativa em relação ao número de túbulos dentinários na dentina coronária humana e bovina. Demonstraram ainda que além do número de túbulos dentinários/mm² também não há diferenças no diâmetro nas camadas correspondentes de dentina coronária de decíduos humanos, molares permanentes e de incisivos centrais bovinos. Porém, afirmaram que o diâmetro desses túbulos dentinários, tanto na coroa como na raiz de dentes bovinos, nas proximidades da junção amelo-cementária ou da polpa são maiores que na dentina humana coronária. Verificaram ainda que a diferença na densidade tubular da dentina bovina, entre as camadas média e profunda, é mais acentuada na coroa do que na raiz, podendo ser usada em substituição à dentina humana (Schilke et al.⁶², 1999; Schilke et al.⁶¹, 2000). Outros autores encontraram valores semelhantes em relação ao número de túbulos dentinários bovinos e não encontraram diferença entre a dentina coronária humana e bovina em relação à densidade de túbulos dentinários/mm² (Saunders⁶⁰, 1988; Schilke et al.⁶², 2000). Correa et al.¹⁹ em 2003 verificaram que a dentina bovina apresentou menor número de túbulos dentinários/área próximo à região do limite amelo-dentinário e maior número de túbulos dentinários/área próximo à polpa, semelhante à dentina humana,

além de túbulos dentinários com maior diâmetro próximo à junção amelo-cementária e menor diâmetro próximo à polpa.

Quanto à permeabilidade, Tagami et al.⁷⁰ (1989) constataram que a dentina bovina tem permeabilidade semelhante a dentina radicular humana, pois apresentam densidades e diâmetros dos túbulos similares. Outros autores avaliaram a permeabilidade dentinária coronária bovina através da condutância hidráulica e relataram que a permeabilidade da dentina coronária de incisivo bovino é de seis a oito vezes menor do que na dentina oclusal de terceiro molar humano, mas semelhante à dentina radicular humana (Tagami et al.⁷⁰,1989; Tagami et al.⁶⁹,1990). Além disso, dentes bovinos também foram utilizados em investigações sobre o efeito do tratamento clareador (Adibfar et al.²,1992; Kwon et al.³⁶, 2002; Benetti et al.⁵, 2004).

6.2 Discussão do Resultado

A permeabilidade das estruturas dentárias vem sendo pesquisada desde a década de 50, quando Wainwright, Lemoine⁷⁵ concluíram que a superfície dentária é permeável a substâncias de baixo peso molecular, sendo a maior penetração dos isótopos radioativos em dentina verificada próximo à junção amelo-cementária e ao redor de fissuras oclusais.

Assim a permeabilidade dentinária e a integridade do cimento da superfície radicular possuem um papel determinante na penetração de peróxido do interior da câmara pulpar para a superfície

radicular externa após clareamento de dentes tratados endodonticamente (Plotino et al.⁵⁰).

No presente estudo verificou-se que ocorreu a passagem de peróxido da câmara pulpar para a superfície externa em todos os grupos experimentais. Para esta penetração íons provenientes dos agentes clareadores atravessaram os tecidos dentários, passando tanto pela dentina, como cimento e esmalte. Entretanto, Kehoe³⁴, em 1987, acredita que o cimento representa uma barreira para passagem de íons, uma vez que avaliando a alteração do pH na superfície radicular externa após a colocação de Ca(OH)_2 no interior da câmara pulpar, verificou alterações de pH menores na superfície radicular de dentes com o cimento intacto do que em dentes onde realizou-se a remoção do cimento. Da mesma forma, neste presente estudo verificou-se os menores resultados de penetração de íons no cimento.

Deve-se ressaltar que na escolha das áreas a serem delimitadas no cimento tomou-se cuidado para que estas ficassem acima do nível do tampão cervical a fim de evitar que a presença do tampão diminuísse a passagem de peróxido para a superfície dentária externa.

Fuss et al.²⁴, 1989 ao avaliarem a difusão da mistura de perborato de sódio com peróxido de hidrogênio e de hidróxido de cálcio verificaram maiores alterações de pH na superfície radicular externa de dentes submetidos ao tratamento clareador e que os materiais clareadores, diferentemente do hidróxido de cálcio, apresentaram uma rápida difusão pela dentina. Ainda, Dezotti et al.²¹ em 2002, avaliaram a variação de pH e da permeabilidade da dentina cervical em dentes submetidos ao tratamento clareador e observaram que o agente clareador passa pela estrutura dentária, e após o procedimento clareador a permeabilidade dentinária se mostra aumentada. Esta maior difusão provavelmente é devido ao menor tamanho das moléculas dos agentes clareadores, uma vez que moléculas

pequenas normalmente se difundem mais rapidamente do que moléculas maiores (Waiwright, Lemoine⁷⁵, 1950; Fuss et al.²⁴, 1989; Chen et al.¹⁶, 1993).

A capacidade destas moléculas, assim como de outros íons de atravessarem a dentina depende de fatores relacionados a essas substâncias e de fatores como a natureza do tecido dentinário e da área de superfície exposta (Rotstein⁵³, 1991). Soma-se a isto que a região cervical apresenta maior permeabilidade do que as demais regiões da raiz (Marshall et al.³⁹, 1960). Portanto, se estas áreas estiverem expostas, recomendam o uso de agentes dessensibilizantes e da realização da barreira cervical, para promover o selamento dos túbulos e reduzir a permeabilidade dentinária desta região (Bonfim et al.⁷ 1998).

Smith et al.⁶⁸ em 1992 avaliaram a efetividade da barreira cervical com Cavit na infiltração pós clareamento interno e concluíram que uma barreira de 2mm com Cavit foi efetiva significativamente para reduzir a infiltração nos túbulos dentinários.

No presente estudo é possível que a passagem de agentes clareadores da superfície interna para externa tenha ocorrido também por possíveis modificações causadas no esmalte, dentina e cemento. Estudando os efeitos deletérios dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários, Bonfim et al.⁷ (1998) relataram que a superfície do esmalte é tão mineralizada que não demonstra significativa alteração após o clareamento. No entanto, autores mostraram alterações significativas no esmalte de dentes submetidos ao tratamento clareador.

Os agentes clareadores caseiros (peróxido de carbamida 10%) e o peróxido de hidrogênio 30% podem causar alterações superficiais do esmalte, afetando a matriz orgânica, e comprometendo, não somente a superfície externa, mas também a estrutura interna do esmalte. Estas

alterações são resultado do baixo peso molecular dos agentes clareadores, que lhes confere a capacidade de penetração através das estruturas dentárias. O efeito de agentes clareadores sobre a superfície do esmalte bovino foi avaliado por Kwon et al.³⁶ (2002) em microscopia eletrônica de varredura e espectrofotômetro. Após um dia de imersão em peróxido de hidrogênio 30%, a modificação de cor pôde ser notada e a análise microscópica demonstrou alterações disformes e suaves, desenvolvendo vários graus de porosidade na superfície do esmalte bovino. Assim, o peróxido de hidrogênio pode causar alterações estruturais na dentina e esmalte favorecendo a passagem dos radicais oxidativos para a superfície radicular externa.

Na dentina, o peróxido de hidrogênio 30% puro tende a causar maiores danos estruturais do que quando misturado com o perborato de sódio (Chng et al.¹⁷ 2002). Em 2009, Carrasco-Guerisoli et al.¹⁵ utilizaram 30 dentes bovinos para avaliar alterações morfológicas na superfície do esmalte e da dentina. Os autores concluíram que o baixo pH associado ao peróxido de hidrogênio durante o clareamento interno pode desencadear alterações na ultraestrutura dentinária, e que o uso de produtos clareadores alcalinos com reduzido tempo de aplicação pode diminuir as alterações morfológicas.

Rotstein et al.⁵⁷ (1996) conduziram uma análise histoquímica, após o tratamento com peróxido de hidrogênio, peróxido de carbamida ou perborato de sódio, para avaliar o efeito dos agentes clareadores sobre os tecidos dentários. Verificaram que a maioria dos agentes clareadores examinados causa alterações nos níveis de cálcio, fósforo, enxofre e potássio dos tecidos. Os géis clareadores testados reduziram a taxa de cálcio/fósforo na dentina e cemento. O enxofre é um marcador de proteoglicanas que está presente na matriz dos tecidos duros e,

mudanças nos níveis deste mineral podem indicar danos aos componentes orgânicos da matriz dos tecidos mineralizados. Os autores ainda constataram que o cimento foi o mais afetado pelas alterações dos níveis de enxofre após clareamento; isto pode ser atribuído devido à maior dificuldade de passagem do agente clareador pelo cimento. Assim, é possível que os íons oxidativos fiquem mais tempo em contato com o cimento. Os autores concluíram que os agentes clareadores podem trazer prejuízos aos tecidos dentários, por isso aconselham cautela na sua utilização.

Ainda, Rotstein et al.⁵⁵ em 1992 analisaram o efeito de diferentes agentes clareadores na solubilidade e porcentagem de componentes inorgânicos da dentina e cimento humano; concluíram que o peróxido de hidrogênio 30% causa alterações na estrutura química do cimento e dentina deixando-os mais susceptíveis a reabsorção, enquanto que o perborato de sódio não causa mudanças significativas na estrutura. Os autores consideraram que, embora existam diversas investigações sobre os efeitos biológicos dos produtos clareadores sobre os tecidos dentários, muitas vezes as metodologias descritas permanecem confusas e contraditórias. Bonfim et al.⁷ em 1998, ressaltam que mais pesquisas devem ser realizadas e que o clareamento por períodos prolongados deve ser evitado.

De acordo com os resultados do presente estudo, a passagem do clareador pela dentina sem recobrimento foi maior e o cimento mostrou ser o tecido que permitiu a menor passagem dos íons do material clareador, embora sem diferenças significativas. Outhwaite et al.⁴⁸ (1976) relataram que o aumento da área da superfície dentinária exposta e a redução da espessura dentinária favorece a permeabilidade. Assim, é provável que ocorra maior passagem de peróxido na região cervical uma vez que a mesma apresenta uma menor espessura de cimento. No presente

estudo a maior passagem de peróxido pelo esmalte do que pelo cimento pode ser atribuída à diferença de espessuras destes tecidos e as características do esmalte bovino que apresenta muitas microtrincas.

Ainda quando o agente clareador é selado no interior da câmara pulpar, ocorre pressão dentro da mesma, devido à liberação de oxigênio, tanto da decomposição do peróxido de hidrogênio como do perborato de sódio. Esta pressão força a saída dos agentes clareadores pelos túbulos dentinários (Chng et al.¹⁷, 2002).

De acordo com Neuvald, Consolaro⁴⁶ em 2000, em cerca de 10% dos casos pode ocorrer a exposição da dentina, devido a “gaps” ou falhas na junção cimento-esmalte. Nestas condições, os íons provenientes da ação dos agentes clareadores podem alcançar os tecidos vivos com maior facilidade e em maior quantidade e aí iniciar um processo inflamatório. Rotstein et al.⁵⁶, em 1991, reportaram os efeitos dos defeitos cementários na penetração de peróxido de hidrogênio 30% durante o clareamento interno. Os autores perceberam que a quantidade de peróxido de hidrogênio coletado no meio externo dos dentes que não apresentavam defeitos cementários foi significativamente menor do que nos grupos que apresentavam defeitos, concordando com os resultados do presente estudo, embora estas diferenças não sejam significantes. Além disso, a desmineralização da superfície radicular se inicia com pH em torno de 6,0 (Bomfim et al.⁷ 1998) e no presente estudo o pH do agente clareador foi 5,5, favorecendo a desmineralização e passagem do peróxido.

Soma-se a isto um aspecto significativo, que é a auto-imunidade da dentina, pois esta apresenta proteínas específicas, muitas vezes inacessíveis às células de reconhecimento imunológico humano. Sua organização dificulta a exposição direta das proteínas não colagênicas à ação das células processadoras de antígenos, permanecendo as proteínas dentinárias incorporadas em uma matriz mineralizada e atuando como

antígenos seqüestrados. Entretanto, quando expostas, no caso de ocorrência de processo inflamatório na região, não são reconhecidas como próprias pelo organismo, e desencadeiam resposta específica, representada por mobilização celular, com o intuito de efetivar a eliminação dos antígenos, e os clastos irão atuar como principal efetor. Uma vez que o mecanismo gerador do processo reabsortivo requer a presença de fatores locais, como a liberação de citocinas, para atuar como promotor de células clásticas, quando a junção amelo-cementaria apresenta esta forma irregular, isto irá colaborar na identificação desta área predispondo-a a instalação das reabsorções cervicais externas, frente à ação de fatores como os agentes clareadores, traumatismos e movimentação dentária induzida (Neuvald⁴⁵, 1997).

Os valores obtidos nos resultados deste presente estudo mostraram que a maior penetração dos íons oxidativos ocorrem na dentina sem recobrimento seguido da dentina recoberta por esmalte, sem diferenças estatísticas. Estudos demonstram que da mesma maneira que os íons passam da câmara pulpar para a superfície externa do esmalte, estes íons passam da superfície externa para a câmara pulpar (Benetti et al.⁵ 2004; Camargo et al.¹², 2007), assim pode-se correlacionar estes resultados com os resultados de estudos que mostram que o clareador aplicado na superfície externa atravessam esmalte e dentina, atingindo a polpa.

A importância desta passagem se deve ao fato de que ao entrar em contato com os tecidos, o peróxido de hidrogênio e outros radicais de oxigênio causam destruição celular e tecidual (Halliwell, Gutteridge²⁷, 1984; Ramp et al.⁵¹, 1987), além de sérios danos ao fibroblasto humano (Simon et al.⁶⁶, 1981). Ramp et al.⁵¹, em 1987 verificaram que mesmo baixos níveis de peróxido de hidrogênio foram suficientes para inibir o metabolismo da glicose e a síntese de colágeno, além de diminuir o nível de fosfatase alcalina.

Diante dos resultados obtidos no presente estudo e dos trabalhos existentes na literatura deve-se ter cuidado e bom senso na indicação do clareamento, na escolha da concentração do agente clareador, bem como técnicas do clareamento interno uma vez que diferentes agentes clareadores, concentrações e técnicas permitem maior ou menor passagem de íons oxidativos da câmara pulpar para os tecidos periodontais.

7 CONCLUSÃO

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

- a) os íons oxidativos de peróxido foram capazes de passar da cavidade pulpar para a superfície externa pela dentina exposta, esmalte e cimento;
- b) a dentina recoberta por cimento permitiu a menor passagem de íons para a superfície externa, embora sem diferenças estatísticas.

8 REFERÊNCIAS*

1. Abbou-Rass M. Long-term prognosis of intentional endodontics and internal bleaching of tetracycline-stained teeth. *Comp Contin Educ Dent*. 1998; 19: 1031-50
2. Adibfar A, Steele A, Torneck CD, Titley KC, Ruse D. Leaching of hydrogen peroxide from bleached bovine enamel. *J Endod*. 1992; 18: 488-91.
3. Anitua F, Zahalegui B, Gil J, Gascon F. Internal bleaching of severe tetracycline discolorations: four-year clinical evaluation. *Quintessence Int*, 1990; 21: 783-8
4. Antunes F, Cadenas E. Estimation of H₂O₂ gradients across biomembranes. *FEBS Lett*. 2000; 475: 121-6.
5. Benetti AR, Valera MC, Mancini MN, Miranda CB, Balducci I. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. *Int Endod J*. 2004; 37: 120-4.
6. Bizhang M, Heiden A, Blanck H, Zimmer S, Seetnam R, Roulet JF. Intracoronary bleaching of discoloured non-vital teeth. *Oper Dent*. 2003; 28: 334-40.
7. Bonfim MDC, Anauate Netto C, Youssef MN. Efeitos deletérios dos agentes clareadores em dentes vitais e não-vitais. *J Bras Odontol Clin*. 1998; 2: 25-32.
8. Bowles WH, Burns JRH. Catalase/peroxidase activity in dental pulp. *J Endod*. 1992; 18: 527-9.

*De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site:
http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

9. Bowles WH, Thompson LR. Vital bleaching: the effects of heat and hydrogen peroxide on pulpal enzymes. *J Endod.* 1986; 12: 108-12.
10. Bowles WH, Ugwuneri Z. Pulp chamber penetration by hydrogen peroxide following vital bleaching procedures. *J Endod.* 1987; 13: 375-7.
11. Brekhus PI, Armstrong WD. A method for the separation of enamel, dentin and cementum. *J Dent Res.* 1935; 15:
12. Camargo SE, Valera MC, Camargo CHR, Mancini MNG, Menezes MM. Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique. *J Endod.* 2007; 33: 1074-7.
13. Camps J, Franceschi H, Idir F, Roland C, About I. Time-course diffusion of hydrogen peroxide through human dentin: clinical significance for young tooth internal bleaching. *J Endod.* 2007; 33: 455-9.
14. Carlsson J. Salivary peroxidase: an important part of our defense against oxygen toxicity. *J Oral Pathol.* 1987; 16: 412-6.
15. Carrasco-Guerisolo LD, Schiavoni RJ, Barroso JM, Guerisolo DM, Pecora JD, Froner IC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. *Dent Traumatol.* 2009; 25: 176-80.
16. Chen JH, Xu JW, Shing CX. Decomposition rate of hydrogen peroxide bleaching agents under various chemical and physical conditions. *J Prosthet Dent.* 1993; 69: 46-8.
17. Chng HK, Palamara JEA, Messer HH. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. *J Endod.* 2002; 28: 62-7.

18. Cooper JS, Bokmeyer TJ, Bowles WH. Penetration of the pulp chamber by carbamide peroxide bleaching agents. J Endod. 1992; 18: 315-7.
19. Correa MD, Anauate Netto C, Youssef MN, Do Carmo ARP, Kuchinski FB. Estudo micromorfológico comparativo entre dentina bovina e humana ao MEV. Rev Pos Grad. 2003; 10: 312-6.
20. Costas FL, Wong NM. Intracoronar isolating barriers: effect of location on root leakage and effectiveness of bleaching agents. J Endod. 1991; 17: 365-8.
21. Dezotti MSG, Souza Junior MHS, Nishiyama CK. Avaliação da variação de pH e da permeabilidade da dentina cervical em dentes submetidos ao tratamento clareador. Pesq Odontol Bras. 2002; 16: 263-8.
22. Feinman RA. Bleaching vital teeth. Curr Opin Cosmetic Dent. 1994; 23-9.
23. Friedman S, Rotstein I, Libfeld H, Stabholz A, Helling I. Incidence of external root resorption and esthetic results in 58 bleached pulpless teeth. Endod Dent Traumatol. 1988; 4: 23-6.
24. Fuss Z, Szajkis S, Tagger M. Tubular permeability to calcium hydroxide and to bleaching agents. J Endod. 1989; 15: 362-4.
25. Gökay O, Yilmaz F, Akin S, Tunçbilek M, Ertan R. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. J Endod. 2000; 26: 92-4.
26. Goldstein RE, Garber DA. Complete dental bleaching. Chicago: Quintessence; 1995.

27. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.* 1984; 219: 1-14.
28. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res.* 1993; 72: 931-8.
29. Haywood VB, Leech T, Heymann HO, Crumpler D, Bruggers K. Nightguard vital bleaching: effects on enamel surface texture and diffusion. *Quintessence Int.* 1990; 21: 801-4.
30. Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent.* 1999; 27: 509-15.
31. Hernández-Ruiz J, Arnao MB, Hiner AN, García-Cánovas F, Acosta M. Catalase-like activity of horseradish: relationship to enzyme inactivation by H₂O₂. *Biochem J.* 2001; 15: 107-14.
32. Hirata R, Santos PCG, Pereira JLN, Massaki RY. Clareamento de dentes vitalizados: situação clínica atual. *J Bras Odontol Clin.* 1997; 1: 13-21.
33. Holmstrup G, Patra SM, Lambjerg-Hansen H. Bleaching of discolored root-filled teeth. *Endod Dent Traumatol.* 1988; 4: 197-201.
34. Kehoe JC. pH reversal following in vitro bleaching of pulpless teeth. *J Endod.* 1987; 13: 6-9.
35. Kinomoto Y, Carnes DL, Ebisu S. Cytotoxicity of intracanal bleaching agents on periodontal ligament cells in vitro. *J Endod.* 2001; 27: 574-7.

36. Kwon YH, Huo MS, Kim KH, Kim SK, Kim YJ. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel. *J Oral Rehabil.* 2002; 29: 473-7.
37. Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2005. 1491p.
38. Lozada O, Garcia C, Alfonso I. Riesgos y beneficios del blanqueamiento dental. *Acta Odontol Venezolana.* 2000; 38: 14-7.
39. Marshall FJ, Massler M, Dute HL. Effects of endodontic treatment on permeability of root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1960; 13: 208-23.
40. Matis BA, Mousa HN, Cochran MA, Eckert GJ. Clinical evaluation of bleaching agents of different concentrations. *Quintessence Int.* 2000; 34: 303-10.
41. McEvoy SA. Chemical agents for removing intrinsic stains from vital teeth. II. Current techniques and their clinical application. *Quintessence Int.* 1989; 20: 379-84.
42. Mcinerney ST, Zillich R. Evaluation of internal sealing ability of three materials. *J Endod.* 1992; 18: 376-8.
43. Mottola HA, Simpson BE, Gorin G. Absorptiometric determination of hydrogen peroxide in submicrogram amounts with leuco crystal violet and peroxidase as catalyst. *Anal Chem.* 1970; 42: 410-1.
44. Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T. Bovine teeth as possible substitutes in adhesion test. *J Dent Res.* 1983; 62: 1076-81.

45. Neuvald LR. Análise microscópica da junção amelo-cementária com ênfase para os mecanismos envolvidos nas reabsorções cervicais externas [Dissertação de Mestrado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 1997.
46. Neuvald LR, Consolaro A. Cementoenamel junction: microscopic analysis and external cervical resorption. *J Endod.* 2000; 26: 503-8.
47. Oliveira LD, Carvalho CA, Hilgert E, Bondioli IR, de Araújo MA, Valera MC. Sealing evaluation of the cervical base in intracoronar bleaching. *Dent Traumatol.* 2003; 19: 309-13.
48. Outhwaite WC, Livingston MJ, Pashley DH. Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post-extraction time on human dentine permeability. *Arch Oral Biol.* 1976; 21: 599-603.
49. Owens BM, Halter TK, Brown DM. Microleakage of tooth-colored restorations with a beveled gingival margin. *Quintessence Int.* 1998; 29: 356-61.
50. Plotino G, Buono L, Nicola M, Grande NM, Pameijer CH, Somma F. Nonvital tooth bleaching: a review of the literature and clinical procedures. *J Endod.* 2008; 10: 1-14.
51. Ramp WK, Arnold RR, Russell JE, Yancey JM. Hydrogen peroxide inhibits glucose metabolism and collagen synthesis in bone. *J Periodontol.* 1987; 58: 340-4.
52. Robertson WD, Melfi RC. Pulpal response to vital bleaching procedures. *J Endod.* 1980; 6: 645-9.
53. Rotstein I. In vitro determination and quantification of 30% hydrogen peroxide penetration through dentin and cementum during bleaching. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991; 72: 602-6.

54. Rotstein I. Role of catalase in elimination of residual hydrogen peroxide following tooth bleaching. *J Endod.* 1993; 19: 567-9.
55. Rotstein I, Lehr Z, Gedalia, I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. *J Endod.* 1992; 18: 290-3.
56. Rotstein I, Toreck Y, Misgav R. Effect of cementum defects on radicular penetration of 30% H₂O₂ during intracoronal bleaching. *J Endod.* 1991; 17: 230-3.
57. Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod.* 1996; 22: 23-5.
58. Ruse ND, Smith DC. Adhesion to bovine dentin - surface characterization. *J Dent Res.* 1991; 70: 1002-8.
59. Ruse ND, Smith DC, Torneck CD, Titley KC. Preliminary surface analysis of etched, bleached, and normal bovine enamel. *J Dent Res.* 1990; 69: 1610-3.
60. Saunders WP. The shear impact retentive strengths of four dentine bonding agents to human and bovine dentine. *J Dent.* 1988; 16: 233-8.
61. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* 2000; 45: 355-61.
62. Schilke R, Bauss O, Lisson JA, Schuckar M, Geurtsen W. Bovine dentin as a substitute for human dentin in shear bond strength measurements. *Am J Dent.* 1999; 12: 92-6.

63. Schroeder HE, Scherle WF. Cemento-enamel - revisited. *J Periodont Res.* 1988; 23: 53-9.
64. Seale NS, Wilson CFG. Pulpal response to bleaching of teeth in dogs. *Pediatr Dent.* 1985; 7: 209-14.
65. Silva CM, Coradazzi JL, Pereira JC, Francischone CE. Shear bond strength of an adhesive system in human, bovine and swinish teeth [abstract 3005]. *J Dent Res.* 1996; 75: 393
66. Simon RH, Scoggin CH, Patterson D. Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblast exposed to oxygen radicals. *J Biol Chem.* 1981; 256: 7181-6.
67. Smidt A, Nuni E, Keinan D. Invasive cervical root resorption: treatment rationale with an interdisciplinary approach. *J Endod.* 2007; 33: 1383-6.
68. Smith JJ, Cunningham CJ, Montgomery S. Cervical canal leakage after internal bleaching procedures. *J Endod.* 1992; 18: 476-81.
69. Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth permeability and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater.* 1990; 6: 45-50.
70. Tagami J, Tao L, Pashley DH, Horner JA. The permeability of dentine from bovine incisors in vitro. *Arch Oral Biol.* 1989; 34: 773-7.
71. Thitinanthapan W, Stamanont P, Vongsavan N. In vitro penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide. *J Esthet Dent.* 1999; 11: 259-64.
72. Tipton DA, Braxton SD, Dabbous MK. Effects of a bleaching agent on human gingival fibroblasts. *J Periodontol.* 1995; 66: 7-13.

73. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. *J Dent Res.* 1988; 67: 1523-8.
74. Tonami K, Takahashi H, Nakamura H, Motomura K, Nishimura F. Effect of storage on tensile strength of bovine teeth [abstract 2161]. *J Dent Res.* 1996; 75: 288
75. Wainwright WW, Lemoine FA. Rapid diffuse penetration of intact enamel and dentin by carbon-14-labeled urea. *J Am Dent Assoc.* 1950; 41: 135-45.
76. Waterhouse PJ, Nunn JH. Intracoronal bleaching of non-vital teeth in children and adolescents: interview results. *Quintessence Int.* 1996; 27: 447-53.
77. Weiger R, Kuhn A, Lost C. Radicular penetration of hydrogen peroxide during intra-coronal bleaching with various forms of sodium perborate. *Int Endod J.* 1994; 27: 313-7.

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 03 de agosto de 2009

RENATO MIOTTO PALO