

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

Laise Daniela Carrasco Guerisoli

**CLAREAMENTO DENTAL INTERNO: EFEITO DE
DIFERENTES SISTEMAS NA MICRODUREZA E
MICROMORFOLOGIA SUPERFICIAL DA DENTINA BOVINA**

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Fröner

Ribeirão Preto

2007

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

**CLAREAMENTO DENTAL INTERNO: EFEITO DE
DIFERENTES SISTEMAS NA MICRODUREZA E
MICROMORFOLOGIA SUPERFICIAL DA DENTINA BOVINA**

Laise Daniela Carrasco Guerisoli

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor em
Odontologia pelo Programa de Odontologia
Restauradora, sub-área Endodontia.*

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Fröner

Ribeirão Preto

2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Guerisoli-Carrasco, Laise Daniela

Clareamento dental interno: efeito de diferentes sistemas na microdureza e micromorfologia superficial da dentina bovina, 2007. 58p.: il.; 28cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP-Departamento de Odontologia Restauradora, Opção:Endodontia.

Orientadora: Fröner, Izabel Cristina.

01. peróxido de hidrogênio, 02.peróxido de carbamida, 03. clareamento dental, 04. microdureza dentinária, 05. morfologia dentinária.

CDU 616.314.18-Endodontia



Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Endodontia e em Dentística, do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Dedicatória

*À **Deus**, que ilumina minha vida e guia meus caminhos sem nunca me abandonar.*

*Ao meu amado esposo **Danilo**, pessoa de inigualável valor. Minha inspiração e alegria de viver...Começou tornando cada momento do curso melhor com sua presença e acabou por seguir pela vida, dividindo comigo, cada dificuldade e alegria. Pelo amor, carinho, respeito, atenção, companheirismo, apoio e compreensão que me dedica todos os dias.*

*Aos meus pais, **Adélia e Luiz Carlos**, pela doação de suas vidas, investindo em mim, quase sempre, mais do que podiam e fazendo dos meus ideais, os seus. Agradeço o apoio e a ajuda em mais esta etapa da minha vida.*

*À minha irmã, **Thaise**, pela colaboração, paciência, carinho, apoio, ajuda e incentivo. Por caminharmos juntas, sendo minha companheira em tudo. Muito obrigada.*

*Ao meu irmão **Leandro**, que me ensina tanto. Pelo amor e pela amizade, incentivo e colaboração sempre que precisei. Por podermos contar um com o outro.*

Agradecimientos

Á Profa. Dra. Izabel Cristina Fröner, minha orientadora. Deus coloca as pessoas certas em nosso caminho, que são responsáveis por transformar nossas vidas. Obrigada por todas as oportunidades concedidas, que com certeza, transformaram minha vida. Agradeço os conhecimentos transmitidos, a paciência, a amizade, a orientação e disponibilidade durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora, pelos muitos conhecimentos transmitidos e oportunidades concedidas. Pelo exemplo de profissional a seguir. Minha admiração e respeito.

À Universidade de São Paulo e à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, minha segunda casa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora pelos conhecimentos transmitidos e disponibilidade em ajudar.

À Profa. Dra. Mônica Campos Serra por permitir a utilização dos equipamentos do Laboratório de Pesquisa em Dentística.

Ao Prof. Danilo Mathias Zanello Guerisoli, pela ajuda incansável e imprescindível na elaboração deste trabalho.

Aos pós-graduandos Profa. Thaise Graciele Carrasco, Prof. Renato Jonas dos Santos Schiavoni e Profa. Juliana Machado Barroso, pela colaboração na realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos da Primeira Turma de Doutorado em Odontologia Restauradora, opção Endodontia, Prof. Eduardo Luiz Barbin, Prof. Júlio César Emboava Spanó, Prof. Alexandre Capelli.

Aos colegas e amigos da Quinta Turma de Mestrado em Odontologia Restauradora, opção Endodontia, Renato Jonas dos Santos Schiavoni, Luciana Aparecida Pereira Barbosa, Desirée Dumont Adams Salvo Souza.

Aos colegas e amigos da Primeira Turma de Doutorado em Odontologia Restauradora, opção Dentística e Quinta Turma de Mestrado em Odontologia Restauradora, opção Dentística.

Às amigas de Pós-Graduação, Adriana Cláudia Lapria Faria, Ana Luíza de Carvalho Felippini e Juliana Abdallah Atoui.

*À amiga **Juliana Machado Barroso**, pelo privilégio da sua amizade e do aprendizado constante na sua convivência. “Há pessoas que realmente não passam em vão pela nossa vida”.*

*Ao amigo **Reginaldo Santana da Silva**, pela singular amizade, ajuda, incentivo, e colaboração sempre que precisei. E pela colaboração na realização deste trabalho. Meu muito obrigada.*

*Ao secretário do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, **Carlos Feitosa dos Santos**, pela competência, presteza e rapidez com que nos atende e resolve nossos problemas. Pela paciência, agradável convivência e disposição em ajudar.*

*À técnica do Laboratório de Pesquisa em Dentística, **Patrícia Marchi**, pela colaboração na utilização dos equipamentos deste laboratório.*

*À técnica do Laboratório de Pesquisa em Endodontia, **Luísa Godói Pitol**.*

*Às funcionárias do Departamento de Odontologia Restauradora, **Maria Amália, Maria Isabel, Rosângela** e da Seção de Pós-Graduação, **Isabel e Regiane**.*

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

Sumário

Resumo	
Abstract	
I. Introdução.....	01
II. Proposição.....	07
III. Capítulos	
1. Effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentin: an <i>in vitro</i> study.....	10
2. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin	23
IV. Discussão.....	40
V. Conclusões gerais	46
VI. Referências bibliográficas.....	48
Anexos	

Resumo

Este estudo teve como objetivos: 01. Avaliar *ex vivo* o efeito de diferentes sistemas clareadores na microdureza dentinária em dentes bovinos submetidos ao clareamento dental interno. 02. Avaliar *ex vivo* o efeito de diferentes sistemas clareadores na morfologia superficial da dentina bovina. Fragmentos de 4 x 4mm, contendo esmalte e dentina, foram obtidos de coroas de incisivos bovinos extraídos. Os espécimes foram submetidos ao clareamento dental interno com peróxido de hidrogênio a 35% e peróxido de carbamida a 37% utilizando sistemas convencionais (Opalescence Endo[®] and Whiteness Super Endo[®]) e fotoativados (Opalescence Xtra[®] and Whiteness HP Maxx[®]). Os controles foram tratados com perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio a 10% ou nenhum tratamento foi realizado. A microdureza dentinária foi mensurada antes e após os tratamentos clareadores, e os valores de dureza Knoop (KHN) foram submetidos à análise estatística (two-way ANOVA, Tukey's post-test). Os espécimes foram observados e fotografados sob microscópio eletrônico de varredura e avaliados com relação às alterações morfológicas da superfície da dentina. Houve uma redução significativa na microdureza dentinária para todos os grupos testados quando comparados aos grupos controles. Opalescence Xtra[®] (-11.36 ± 8.14 KHN), Opalescence Endo[®] (-13.71 ± 8.02 KHN), Whiteness HP Maxx[®] (-15.18 ± 9.58 KHN) e Whiteness Super Endo[®] (-16.97 ± 6.55 KHN) foram semelhantes estatisticamente. O grupo do perborato de sódio misturado com peróxido de

hidrogênio 10% (2.10 ± 8.58 KHN) e o grupo sem tratamento clareador (-2.71 ± 2.40 KHN) também foram estatisticamente semelhantes entre si. Ocorreu uma grande variação no padrão de alterações da morfologia superficial da dentina com os sistemas clareadores utilizados. Todos os produtos testados apresentaram redução significativa da microdureza dentinária, exceto o grupo de perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio a 10%. Ambos, pH e oxidação do peróxido de hidrogênio apresentam o papel de alterar a estrutura da dentina durante o clareamento interno. A utilização de produtos alcalinos com um tempo reduzido de aplicação (técnicas fotoativadas) pode diminuir as alterações morfológicas na dentina.

Palavras-chave: peróxido de hidrogênio, peróxido de carbamida, clareamento dental, microdureza dentinária, morfologia dentinária.

Abstract

The aim of this study was: 01. To evaluate *in vitro* the effect of different in-office bleaching systems on the surface morphology of bovine dentin. 02. To evaluate *ex vivo* the effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentine. Tooth fragments measuring 4 x 4mm, containing enamel and dentin, were obtained from the crowns of extracted bovine incisors. Samples were submitted to simulated intracoronal bleaching techniques with 35% hydrogen peroxide and 37% carbamide peroxide using conventional (Opalescence Endo[®] and Whiteness Super Endo[®]) and light activated systems (Opalescence Xtra[®] and Whiteness HP Maxx[®]). Controls were treated either with sodium perborate mixed with 10% hydrogen peroxide or no bleaching agent. Dentine microhardness values were measured before and after bleaching procedures, recorded as KHN (Knoop Hardness Number), and the differences between them analyzed (two-way ANOVA, Tukey's post-test). The samples were observed under SEM and the recorded images were evaluated for topographic alterations. Significant reductions of dentine microhardness were observed for all treatments when compared to the control groups. Opalescence Xtra[®] (-11.36 ± 8.14 KHN), Opalescence Endo[®] (-13.71 ± 8.02

KHN), Whiteness HP Maxx[®] (-15.18 ± 9.58 KHN) and Whiteness Super Endo[®] (-16.97 ± 6.55 KHN) presented similar differences. The walking bleach technique (2.10 ± 8.58 KHN) and the untreated groups (-2.71 ± 2.40 KHN) were statistically alike. The ultrastructural alterations of dentin observed in this study varied greatly between groups, according to the products used. Apparently, higher pH products associated to in-office techniques yielded to better maintenance of dentin ultrastructure. The in-office products tested in the present study caused a significant reduction in dentine microhardness. The walking bleach technique did not affect dentine microhardness. Both low pH and hydrogen peroxide oxidation play a role in altering the ultrastructure of dentin during internal dental bleaching. The use of alkaline products with reduced time of application (in-office techniques) may decrease such morphological alterations.

Keywords: carbamide peroxide, hydrogen peroxide, dental bleaching, dentine microhardness, dentin morphology.

I. Introdução

Nos dias atuais, a aparência estética apresenta uma importância bastante grande no convívio social, no ambiente de trabalho e para a saúde psicológica das pessoas. A Odontologia tem demonstrado inúmeros avanços e atenção especial tem sido dada para a estética, com o desenvolvimento de novos materiais, procedimentos, aparelhos ou técnicas. O maior desafio da Odontologia é obter o principal desejo do paciente: não haver em seu sorriso nenhum detalhe que denuncie algum tratamento odontológico.

Os padrões estéticos são cada vez mais rigorosos e a Odontologia moderna exige dentes com tonalidades mais claras, bem contornados e alinhados estabelecendo um padrão de beleza, apresentação pessoal e saúde. No entanto, com frequência, dentes vitais e não vitais se apresentam com a cor e/ou forma alterada, comprometendo a estética.

Para os dentes não-vitais a causa mais freqüente do escurecimento dental consiste na hemorragia da polpa, na decomposição tecidual e na permanência de sangue no interior do conduto radicular (NUTTING & POE, 1967). Quando a polpa é traumatizada, o sangue que extravasa da ruptura dos vasos pode invadir a câmara pulpar e penetrar nos túbulos dentinários. Estagnado na câmara pulpar, ocorre decomposição do sangue com a hemólise dos eritrócitos liberando a hemoglobina, que contém ferro. Este se combina com o sulfeto de hidrogênio e forma sulfeto de ferro, um componente que promove o escurecimento do elemento dental

(GROSSMANN, 1976 e DAHLSTRON, 1993). O escurecimento também se deve ao simples acúmulo de hemoglobina ou outras formas de moléculas de hematina (MARIN, 1993).

Entretanto, a etiologia da alteração cromática nos dentes despulpados pode ser decorrente também dos procedimentos operatórios (PAIVA&ANTONIAZZI, 1988) como o acesso inadequado à câmara pulpar, a remoção incompleta do conteúdo da cavidade e a utilização de fármacos e materiais obturadores. As causas relacionadas com o acesso inadequado à câmara pulpar e a utilização de fármacos de maneira incorreta são consideradas como causas iatrogênicas da alteração cromática dos dentes (BARATIERI et al., 1993) e estão incluídas no grupo das manchas intrínsecas adquiridas (DEMARCO & GARONE NETTO, 1995).

O escurecimento de dentes tratados endodonticamente é uma deficiência estética que geralmente requer tratamentos como o clareamento ou próteses (KANEKO et al., 2000). Em muitas situações clínicas, o clareamento dental torna-se a primeira alternativa de tratamento. Ele é preferido por pacientes e profissionais, por conservar os dentes naturais, ao contrário dos tratamentos protéticos como facetas ou próteses, que os desgastam (DEZOTTI et al., 2002); além disso, é um procedimento simples e econômico (LEE et al., 2004).

O mecanismo de ação do clareamento é atribuído à uma reação de oxidação entre o agente clareador e o substrato escurecido. Essa reação modifica a molécula escurecida e, assim, altera suas características, entre elas a cor (KIRK, 1889). O agente clareador oxidante reage com o material orgânico no interior da dentina (SMIGEL, 1996), eventualmente convertidos em dióxido de carbono e água (PÉCORA et al., 1996).

O peróxido de hidrogênio se decompõe em radicais livres que se combinam aleatoriamente para formar oxigênio molecular e água (GÖKAY et al., 2000). O oxigênio converte compostos com anéis carbônicos altamente pigmentados em cadeias mais claras na cor, abrindo estes anéis, tendo como subprodutos dióxido de carbono e água. Novas cadeias formadas, compostas de carbono com ligação dupla, são convertidos em grupos hidroxila (tipo álcool) que são geralmente incolores (BARATIERI et al., 1993). O mecanismo de ação do peróxido de carbamida é semelhante, uma vez que ele se dissocia em peróxido de hidrogênio e uréia.

A preocupação com o clareamento de dentes desvitalizados não é recente e vem sendo utilizado como artifício para melhorar a estética desde o fim do século

XIX (SULIEMAN et al., 2004). Diferentes técnicas e substâncias químicas foram utilizadas para o clareamento de dentes com alterações cromáticas, em especial dos dentes desvitalizados. Entre estas está o ácido oxálico (BOGUE, 1872; CHARPLE, 1877), o hipoclorito de cálcio (TRUMAN, 1881), o peróxido de hidrogênio (HARLAN, 1884 apud MACISAAC & HOEN, 1994), o dióxido do sódio (KIRK, 1893) e o peróxido de hidrogênio com éter (WESTLAKE, 1895).

Em 1961, SPASSER preconizou a utilização do perborato de sódio em uma mistura com água, formando uma pasta espessa, a qual era colocada no interior da câmara pulpar entre as sessões. COHEN (1968) preconizou a utilização de uma bolinha de algodão embebida em peróxido de hidrogênio a 30 %, ou superoxol. Em 1976, NUTTING & POE introduziram a técnica “walking bleach”, que é realizada inserindo-se uma pasta de perborato de sódio com peróxido de hidrogênio a 30% na câmara pulpar, com trocas periódicas até a obtenção da cor desejada. A técnica é amplamente difundida e muitos dentistas têm considerado este método efetivo (KANEKO et al., 2000), sendo que a longevidade dos resultados possui boa taxa de sucesso após anos do término do tratamento (GLOCKNER et al., 1999).

Mais recentemente, gel de peróxido de carbamida também tem sido utilizado na técnica “walking bleach” com bons resultados estéticos (DUTRA et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2004) e mesma eficácia que o perborato de sódio com água (PERRINE et al., 2000). Obtendo, inclusive, maior grau de permeabilidade na dentina que o perborato de sódio com peróxido de hidrogênio a 20% (CARRASCO et al., 2003).

O conceito da ativação do agente clareador com objetivo de acelerar o processo de clareamento foi apresentado por WESTLAKE (1895) que utilizou uma corrente elétrica e pirozona (solução a 25% de peróxido de hidrogênio e éter). Outros métodos de aceleração do processo de clareamento foram sugeridos, como a utilização de uma lâmpada “photo-flood” acoplada ao refletor (GOLDSTEIN, 1976) e a aplicação de espátulas ou brunidores aquecidos (MONDELLI et al., 1984). Além desses, ainda se utilizou o pirógrafo modificado, que apresentava a vantagem de propiciar controle da temperatura (AUN&MOURA, 1988), e o ultra-som para ativar as substâncias clareadoras ou soluções irrigantes previamente à aplicação do agente clareador, ao invés do calor (MANTESSO et al., 1996; LACERDA et al., 1986, CARRASCO et al., 2004).

Nos mais novos sistemas de clareamento dental, a ativação do agente clareador voltou a ser utilizada, porém com modificações que atingem desde os

agentes clareadores até os equipamentos utilizados para a fotoativação. Existe um tendência para a realização do clareamento em apenas uma sessão, implicando na utilização de agentes clareadores em altas concentrações, geralmente peróxido de hidrogênio em torno de 35%. Estas substâncias também apresentam em sua composição fotoiniciadores que agem como gatilho, ou seja, o processo clareador é acelerado/intensificado quando se expõe o gel clareador à fontes emissoras de luz visível na faixa de 450 a 500nm. São chamados de agentes fotossensíveis (ZANIN & BRUGNERA, 2002).

Para ativar esses agentes clareadores podem ser utilizadas diferentes fontes de luz como os aparelhos fotoativadores convencionais emissores de luz halógena e aparelhos de arco de plasma (KASHIMA-TANAKA et al., 2003), laser (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) (SMIGEL, 1996; REYTO, 1998; SUN, 2000; BAIK et al., 2001; TANJI & PELINO, 2002;) e LEDs (Light Emitting Diode) associados ou não à um laser de diodo terapêutico (ZANIN et al., 2004; TURSSI et al., 2006; CARRASCO et al., 2007^a). Embora a penetração do agente clareador na dentina e, portanto, a eficácia do clareamento seja semelhante quando se utiliza luz halógena ou LED (CARRASCO et al., 2007^a e 2007^b), a vantagem da utilização dos LEDs com relação aos demais tipos de luz, inclusive o laser de alta potência, consiste no não-aquecimento dental por tratar-se de uma luz fria (TORRES et al., 2004).

Atualmente, as técnicas e materiais utilizados para o clareamento dental estão voltados para a proposição de métodos que, além de rapidez e eficácia em restabelecer a cor natural dos dentes, não causem danos às estruturas dentais, à mucosa bucal e à saúde do paciente.

O clareamento dental envolve um contato direto do agente clareador com a superfície dental. No clareamento dental interno, este contato ocorre por um longo período de tempo quando se atua com sistemas clareadores que utilizam a técnica convencional "walking bleach". Já nos sistemas ativados por luz, embora o tempo de contato seja reduzido, a concentração do agente clareador utilizado é maior. Possíveis efeitos colaterais podem ocorrer, entre eles, o enfraquecimento do esmalte e da dentina pela oxidação de seus componentes orgânicos ou inorgânicos e alterações morfológicas destas superfícies dentais.

Avaliações por microscopia eletrônica de varredura após o clareamento dental tem sido amplamente estudadas no esmalte e podem apresentar modificação na sua micromorfologia superficial (McGUGIN et al., 1992; SHANNON,

1993; BEM-AMAR et al., 1995; LEE et al. 1995 ; JOSEY et al., 1996) ou não (HAYWOOD et al., 1990; TONG et al., 1993; ERNST et al., 1996; GULTZ et al., 1999; LAI et al., 2003). Em dentina, existem poucos estudos, e estes são também controversos. Enquanto KODAKA et al. (1992), ZALKIND et al. (1996) E CHNG et al.(2005) encontraram alterações na micromorfologia da dentina com a utilização de agentes clareadores, WHITE et al. (2000) não observaram modificações.

Alterações no conteúdo mineral do esmalte e dentina após clareamento dental tem sido avaliados (ROTSTEIN et al., 1992; BARBOSA et al., 1994; WANDERA et al., 1994; ROTSTEIN et al., 1996; POTOČNIK et al., 2000). A microdureza dentinária após exposição à alguns agentes clareadores pode reduzir (PÉCORA et al., 1994; CHNG et al., 2002; LEWINSTEIN et al., 2004; CHNG et al., 2004 e 2005) ou não sofrer alterações (FREEDMAN & REYTO, 1997; BASTING et al., 2001; JOINER et al., 2004; SULIEMAN et al., 2004; UNLU et al., 2004). A desmineralização altera a dureza da dentina (ARENDS et al., 1992; ROTSTEIN et al., 1996), porém, a remineralização ocorre quando na presença de saliva, retornando à microdureza inicial (de FREITAS et al., 2002; de FREITAS et al., 2004).

Apesar de ser um tema bastante novo na pesquisa científica, os novos sistemas de clareamento dental, em particular os ativados por luz, têm sido muito investigados com relação ao clareamento dental externo (SMIGEL, 1996; GARBER, 1997; FREEDMAN & REYTO, 1997; REYTO, 1998; SUN, 2000). Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos da utilização destes sistemas no clareamento dental interno (LORENZO et al., 1996; GIÓIA, 2000).

Os estudos à respeito das alterações dentinárias frente ao clareamento dental interno são poucos e contraditórios. Faz-se necessário estudar a forma de atuação destes sistemas clareadores na dentina, durante o clareamento dental interno, com relação aos seus efeitos na microdureza e micromorfologia dentinária.

II. Proposição

O presente trabalho, composto por dois artigos científicos, teve como objetivos:

1. Avaliar *ex vivo* o efeito de diferentes sistemas clareadores na microdureza da dentina bovina submetida ao clareamento dental interno.
2. Avaliar *ex vivo* o efeito de diferentes sistemas clareadores na morfologia superficial da dentina bovina submetida ao clareamento dental interno.

III. Capítulos

Capítulo 1

Effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentin: an in vitro study

*Artigo enviado para publicação na
Revista Journal of Endodontics*

Effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentin: an *in vitro* study

LD Carrasco-Guerisoli, DDS, MSc¹, RJS Schiavoni, DDS, MSc¹, TG Carrasco, DDS, MSc¹, DMZ Guerisoli, DDS, MSc², JD Pécora, DDS, PhD¹, IC Fröner DDS, PhD¹

¹ Ribeirão Preto Dental School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

² Faculty of Dentistry, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil.

Correspondence: Prof. Danilo M. Zanello Guerisoli

Departamento de Odontologia Clínica

Faculdade de Odontologia

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

79070-900, Campo Grande - MS, Brazil

Tel.: +55 67 3345-7383; Fax: +55 67 3345-7380

e-mail: zanello@nin.ufms.br

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentin. Ninety-six tooth fragments were obtained from extracted bovine central incisors and submitted to simulated intracoronal bleaching techniques using conventional and light activated systems. Controls were treated either with sodium perborate mixed with 10% hydrogen peroxide or no bleaching agent. Dentin microhardness values were measured before and after bleaching procedures, and the differences between them analyzed (two-way ANOVA, Tukey's post-test). Significant reductions of dentin microhardness were observed for all treatments when compared to the control groups. Opalescence Xtra[®] (-11.36 ± 8.14 KHN), Opalescence Endo[®] (-13.71 ± 8.02 KHN), Whiteness HP Maxx[®] (-15.18 ± 9.58 KHN) and Whiteness Super Endo[®] (-16.97 ± 6.55 KHN) presented similar reductions on dentin microhardness. The walking bleach technique (2.10 ± 8.58 KHN) and the untreated groups (-2.71 ± 2.40 KHN) were statistically alike. The in-office products caused a significant reduction in bovine dentin microhardness.

Keywords: carbamide peroxide, dental bleaching, dentine microhardness, hydrogen peroxide.

Introduction

Internal dental bleaching is an established, simple, conservative and cost-effective method of improving the color of teeth that have received root canal treatment (1, 2, 3). The different techniques rely on an oxidation reaction in order to reverse the chromatic alteration of the dental tissues (4, 5).

The walking bleach technique, proposed by Spasser (6) and modified by Nutting & Poe (7), is an effective and economic method to treat tooth discolouration, with a good success rate (8, 9). However, the demand for faster results in dental bleaching procedures, either for endodontically treated teeth or not, led to the development of products specifically designed for in-office use. Such products, containing hydrogen peroxide or carbamide peroxide at various concentrations, may use light as a catalyst to accelerate the chemical reaction and thus produce the desired change in tooth color faster than the walking bleach technique.

Although the current bleaching techniques are effective in lightening tooth color, their use has been associated with alterations in the chemical structure of dentin. The reason by which bleaching agents affect this tissue is still unknown, but studies reported that hydrogen peroxide may cause dissolution of inorganic material, reduction in calcium-phosphorus ratio, and reduction in the organic components of dentin by protein oxidation (10, 11, 12).

The effects of peroxide-based products on dentin microhardness are controversial. Some authors report no adverse effects (13, 14), while others found that such products could significantly reduce dentin hardness (15, 16, 17, 18). On the other hand, studies indicate that the microhardness of human dentin was not influenced when treated by a mixture of sodium perborate and 30% hydrogen peroxide (12, 19).

Due to the lack of consensus among researchers, the aim of this study is to contribute with the topic, by evaluating *in vitro* the effect of different bleaching systems on the hardness of bovine dentin.

Materials and methods

The buccal portions of ninety-six crowns of freshly extracted bovine maxillary central incisors were cut in a water-refrigerated, hard tissue microtome (Minitron Struers, Copenhagen, Denmark), 1mm from the cement-enamel junction, producing the same number of blocks measuring 4 x 4 x 2mm, containing enamel and dentin.

Both surfaces of the blocks were polished successively in a polishing machine (Minitron Struers, Copenhagen, Denmark) with 400, 600 and 1200 grit silicon carbide paper (3M Brazil, Sumaré, SP, Brazil), followed by 0,3 and 0,05 μm alumina suspension (Arotec, São Paulo, SP, Brazil) on felt cloth (Arotec São Paulo, SP, Brazil). Then, the blocks were washed in running water for 2 hours, and immersed in distilled, deionized water under ultrasonic agitation for 5 min to remove possible residues.

The dentin surface of the samples were tested for Knoop Hardness Number (KHN) using a microhardness tester (HMV-2 Shimadzu, Tokio, Japan) loaded to 25 g with an indentation time of 15 s. Five indentations were made, at least 700 μm from the edge, spaced 200 μm apart, and the mean KHN was recorded for each sample as the initial microhardness value.

Six 5 mm height silicon frames were prepared to accommodate 16 dental blocks without gaps in the sides, allowing space for the bleaching solution. This device also provided, when necessary, a hermetic sealing with the use of glass plates over and under it (20).

The samples were divided randomly in 6 groups, according to the bleach system to be tested, and each group was placed in position in a silicon frame. Group

I was treated with Whiteness SuperEndo[®] (37% carbamide peroxide, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brazil), receiving the bleaching gel in contact with the dentin. The silicon frame was covered by dark glass plates fixed with metal clamps, simulating the “walking bleach” technique, and the device was stored at 37°C, 100% humidity. The bleaching agent was replaced every 5 days, for a total of 4 applications. Group II received the same treatment as Group I, but the bleaching agent used was Opalescence Endo[®] (35% hydrogen peroxide, Ultradent, South Jordan, UT, USA). Group III received Whiteness HP Maxx[®] (35% hydrogen peroxide, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brazil), a light activated bleaching product. Activation was performed with LEDs (Brightness LaserLight, Kondortech, São Carlos, SP, Brazil) for 30 s, at a distance of 5 mm. After 5 min, the bleaching gel was removed from the samples, and the process repeated until 6 applications were performed. Group IV was treated with Opalescence Xtra[®] (35% hydrogen peroxide, Ultradent, South Jordan, UT, USA), following the same method used for group III. Group V (positive control) received tetra-hydrated sodium perborate (Merck SA, São Paulo, SP, Brazil) mixed with 10% hydrogen peroxide (Merck SA, São Paulo, SP, Brazil) (1:1, by weight), following the same technique as group I. Group VI (negative control) received the same treatment as group I, but no bleaching agent was used.

After the bleaching procedures, samples were washed in running water for 24 h, dried with absorbent paper and again tested for KHN, as described previously. The differences between microhardness values before and after treatment were calculated for each sample and analyzed (two-way ANOVA, Tukey’s post-test).

Results

The absolute values for KHN before and after bleaching procedures for the tested groups are represented graphically in Figure 1.

Significant reductions of dentin microhardness were observed for all treatments when compared to the control groups ($p < 0.05$). Opalescence Xtra[®] (-11.36 ± 8.14 KHN), Opalescence Endo[®] (-13.71 ± 8.02 KHN), Whiteness HP Maxx[®] (-15.18 ± 9.58 KHN) and Whiteness Super Endo[®] (-16.97 ± 6.55 KHN) presented similar differences. The walking bleach technique group (2.10 ± 8.58 KHN) and the untreated group (-2.71 ± 2.40 KHN), which served as controls in this study, were statistically alike ($p > 0.05$).

Discussion

The intra-coronal bleaching of discolored teeth has been an accepted clinical procedure in dentistry since late nineteenth century (21), and currently the most common techniques utilize peroxides as bleaching agents (22). However, the side-effects and implications of this cosmetic treatment are still controversial (17).

In the present study, two light activated products (Whiteness HP Maxx[®] and Opalescence Xtra[®]) and two “walking bleach” type products (Whiteness SuperEndo[®] and Opalescence Endo[®]) were evaluated. Whiteness SuperEndo[®] contains 37% carbamide peroxide, while the others contain 35% hydrogen peroxide. Acting as a control group, sodium perborate mixed with 10% hydrogen peroxide was used, according to the “walking bleach” technique proposed by Nutting and Poe (7).

According to Joiner (23), degradation of carbamide peroxide would yield a maximum of 36% (w/w) of hydrogen peroxide, thus significantly reducing the final concentration of the active principle. Whiteness Super Endo[®], however, caused a microhardness reduction (-16.97 ± 6.55 KHN) statistically similar to the other walking bleach, hydrogen peroxide-based product tested, Opalescence Endo[®] (-13.71 ± 8.02 KHN).

The Whiteness HP Maxx[®] and Opalescence Xtra[®] are 35% hydrogen peroxide-based products, but they have different pH values. The first one is alkaline

(24), whereas the last is highly acidic, with a pH of 3.67 (25). Theoretically, the more acidic bleaching agent should produce greater microhardness reduction, but this was not observed. The difference between Whiteness HP Maxx[®] ($-15,18 \pm 9,58$ KHN) and Opalescence Xtra[®] ($-11,36 \pm 8,14$ KHN) was not statistically significant.

The results of this study indicate that all the tested products reduced significantly dentin microhardness, except sodium perborate mixed with hydrogen peroxide. Similar results regarding hydrogen peroxide-based products were found by Chng *et al.* (12), who reported that teeth treated only with hydrogen peroxide had lower dentin microhardness than teeth treated with sodium perborate mixed with hydrogen peroxide or sodium perborate mixed with water. This was also observed by Lewinstein *et al.* (19), who showed that treatment of dentin with 30% hydrogen peroxide for 5 min significantly reduced the microhardness, whereas sodium perborate mixed with 30% hydrogen peroxide for up to 30 min produced no significant alterations.

Pécora *et al.* (15) applied various bleaching agents directly onto dentin slices for 72 h and observed that 30% hydrogen peroxide solution caused the greatest reduction in dentin microhardness, followed by 10% carbamide peroxide. Chng *et al.* (26) found similar results using 35% hydrogen peroxide gel, 30% hydrogen peroxide solution and 35% carbamide peroxide gel. Tam *et al.* (27) found 10 and 15% carbamide peroxide gels to cause a significant decrease on flexural strength and modulus of bovine dentin.

Apparently, the reduced time required by light activated products to restore or, at least, improve tooth colour does not translate into a safer procedure when compared to the “walking bleach”-type products. The present study found that both systems cause significant reduction of KHN of dentin, which may lead to a weakening of the dental structure.

Rotstein & Friedman (28), Chng *et al.* (12) and Sulieman *et al.* (14) suggested that pH may play a major role in dentin microhardness alterations during dental bleaching procedures. Sodium perborate is alkaline, and may counterbalance the acidic nature of hydrogen peroxide, reducing its deleterious effect on dentin. Some authors even suggest that the effect of soft drinks or juice on the mineralized tissues of teeth for a few minutes is greater than the mineral loss caused by bleaching with perborates (12, 29, 30).

The results of the present study indicate that 35% hydrogen peroxide and 37% carbamide peroxide cause a significant decrease of dentin microhardness. The lower application time of light activated, hydrogen peroxide-based products does not reduce the alterations of dentin hardness. Hydrogen peroxide mixed with sodium perborate does not affect dentin microhardness.

References

1. Lee GP, Lee MY, Lum SOY, Poh RSC, Lim KC. Extraradicular diffusion of hydrogen peroxide and pH changes associated with intracoronal bleaching of discoloured teeth using different bleaching agents. *Int Endod J* 2004;37:500-6.
2. Lim MY, Lum SO, Poh RS, Lee GP, Lim KC. An in vitro comparison of the bleaching efficacy of 35% carbamide peroxide with established intracoronal bleaching agents. *Int Endod J* 2004;37:483-8.
3. Carrasco LD, Guerisoli DM, Rocha MJ, Pécora JD, Fröner IC. Efficacy of intracoronal bleaching techniques with different light activation sources. *Int Endod J* 2007;40:204-8.
4. Smigel I. Laser tooth whitening. *Dent Today* 1996;15:32-6.
5. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: History, chemistry, safety and legal aspects. *Dent Update* 2004;31:608-16.
6. Spasser HF. A simple bleaching technique using sodium perborate. *NY State Dent J* 1961;27:332-334.
7. Nutting EB, Poe GS. A new combination for bleaching teeth. *J Calif Dent Assoc* 1963;31:289-91.
8. Glockner K, Hulla H, Ebeleseder K, Stadler P. Five-year follow up of internal bleaching. *Braz Dent J* 1999;10:105-10.
9. Amato M, Scaravilli MS, Farella M, Riccitiello F. Bleaching teeth treated endodontically: long-term evaluation of a case series. *J Endod* 2006;32:376-8.
10. Rotstein I, Lehr Z, Gedalia I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. *J Endod* 2002;18:290-3.
11. 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.

12. Chng HK, Palamara JE, Messer HH. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. *J Endod* 2002;28:62-67.
13. Ünlü N, Çobankara FK, Altinöz C, Özer F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *J Oral Rehabil* 2004;31:57-61.
14. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent* 2004;32:581-90.
15. Pécora JD, Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Silva RG. In vitro action of various bleaching agents on the microhardness of human dentin. *Braz Dent J* 1994;5:129-34.
16. De Freitas PM, Basting RT, Rodrigues JA, Serra MC. Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different time intervals. *Quintessence Int* 2002;33:370-5.
17. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosth Dent* 2004;92:337-42.
18. Chng HK, Ramli HN, Yapa AU, Limb CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. *J Dent* 2005;33:363-9.
19. Lewinstein I, Hirschfeld Z, Stabholz A, Rotstein I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. *J Endod* 1994;20:61-3.
20. Carrasco-Guerisoli LD, Schiavoni RJS, Barroso JM, Guerisoli DMZ, Pécora JD, Fröner IC. Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin. *Dent Traumatol*, in press.
21. MacIsaac AM, Hoen MM. Intracoronar bleaching: concerns and considerations. *J Can Dent Assoc* 1994;60:57-64.

22. Farmer DS, Burcham P, Marin PD. The ability of thiourea to scavenge hydrogen peroxide and hydroxyl radicals during the intra-coronal bleaching of bloodstained root-filled teeth. *Aust Dent J* 2006;51:146-52.
23. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-9.
24. Castello RR, Monnerat AF. Avaliação das alterações estruturais em esmalte submetido ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%. *RBO* 2004;61:160-4.
25. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc* 2000;66:421-6.
26. Chng HK, Yap AU, Wattanapayungkul P, Sim CP. Effect of traditional and alternative intracoronal bleaching agents on microhardness of human dentine. *J Oral Rehabil* 2004;31:811-6.
27. Tam LE, Lim M, Khanna S. Effect of direct peroxide bleach application to bovine dentin on flexural strength and modulus in vitro. *J Dent* 2005;33:451-8.
28. Rotstein I, Friedman S. pH variation among materials used for intracoronal bleaching. *J Endod* 1991;17:376-9.
29. Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. *Quintessence Int* 1992;23:471-88.
30. Lee KH, Kim HI, Kim KH, Kwon YH. Mineral loss from bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. *J Oral Rehabil* 2006;33:229-33.

Figures

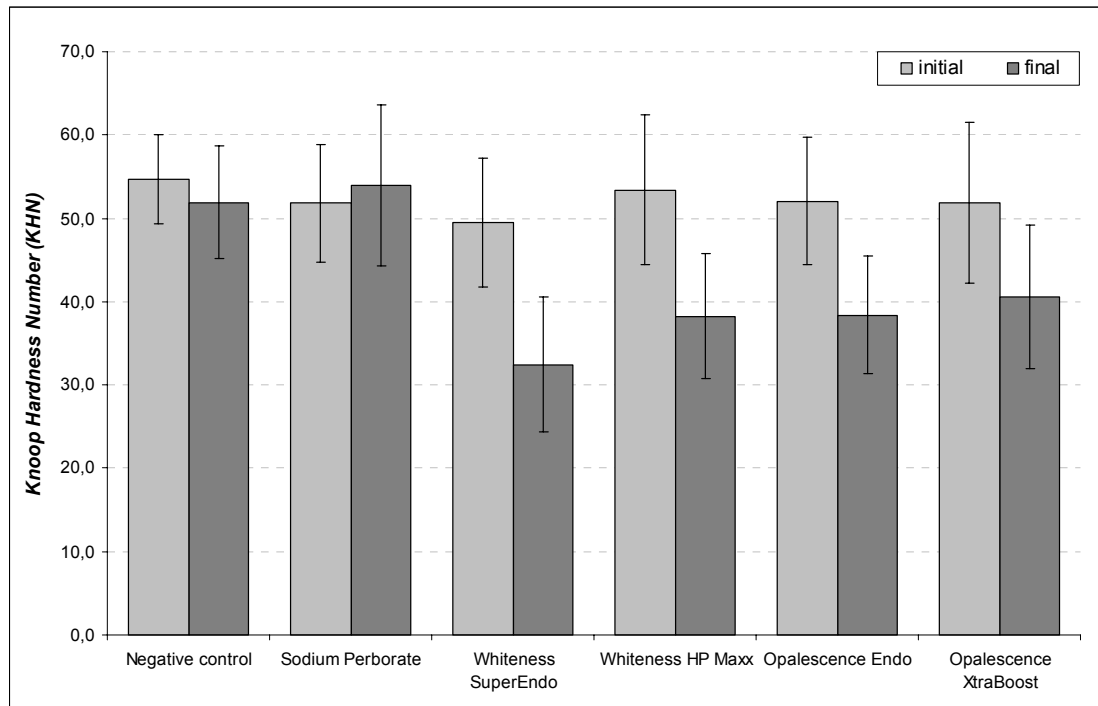


Figure 1. Absolute values for KHN before and after bleaching procedures for the tested groups. Error bars represent standard deviation.

Capítulo 2

*Effect of different bleaching systems on the ultrastructure
of bovine dentin*

*Artigo aceito para publicação na
Revista Dental Traumatology*

Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin

Laise Daniela Carrasco-Guerisoli¹, Renato Jonas dos Santos Schiavoni¹, Juliana Machado Barroso¹, Danilo Mathias Zanello Guerisoli², Jesus Djalma Pécora¹, Izabel Cristina Fröner¹

¹ Ribeirão Preto Dental School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

² Faculty of Dentistry, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brazil.

Running title: Bleaching on bovine dentin ultrastructure

Keywords: carbamide peroxide, dental bleaching, dentin morphology, hydrogen peroxide.

Correspondence: Prof. Danilo M. Zanello Guerisoli

Departamento de Odontologia Clínica

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

79070-900, Campo Grande - MS, Brazil

Tel.: +55 67 3345-7383; Fax: +55 67 3345-7380

e-mail: zanello@nin.ufms.br

Abstract

The aim of this study is to evaluate *in vitro* the effect of different in-office bleaching systems on the surface morphology of bovine dentin. Thirty tooth fragments measuring 4 x 4mm, containing enamel and dentin, were obtained from the crowns of extracted bovine incisors. Samples were subjected to simulated intracoronal bleaching techniques using conventional (Opalescence Endo[®] and Whiteness Super Endo[®]) and light activated systems (Opalescence Xtra[®] and Whiteness HP Maxx[®]). Controls were treated either with sodium perborate mixed with 10% hydrogen peroxide or no bleaching agent. The samples were observed under SEM and the recorded images were evaluated for topographic alterations. The ultrastructural alterations of dentin observed in this study varied greatly between groups, according to the products used. Higher pH products (Whiteness HP Maxx[®] and Opalescence Xtra[®]) associated to in-office techniques yielded to better maintenance of dentin ultrastructure. Apparently, both low pH and hydrogen peroxide oxidation play a role in altering the ultrastructure of dentin during internal dental bleaching. The use of alkaline products with reduced time of application (in-office techniques) may decrease such morphological alterations.

Introduction

Internal dental bleaching is an established, simple, conservative and cost-effective method of improving the colour of discoloured teeth that have received root canal treatment (1, 2, 3). The discolouration of the dental tissues is reversed by an oxidation reaction between the bleaching agent (a peroxide) and the substrate, normally an organic molecule (4, 5).

The demand for faster results in dental bleaching procedures, either for endodontically treated teeth or not, led to the development of products specifically designed for in-office use. Such products, containing hydrogen peroxide or carbamide peroxide at various concentrations, may use light as a catalyst to accelerate the chemical reaction and, thus, produce the desired change in tooth colour faster than the walking bleach technique.

Although such bleaching agents are highly effective in lightening tooth colour, concern has been expressed regarding their use, especially hydrogen peroxide, due to the associated post-bleaching complications. These include alteration in the surface morphology of dentin (6), lower microhardness values (7, 8), changes in chemical composition of dentin (9), increased dentin permeability (10) and external cervical root resorption (11, 12).

The effects of peroxide-based products on dentin ultrastructure are still controversial, and while some authors report no adverse effects (5, 13), others found significant changes (6, 14).

The reason by which bleaching agents affect dentin is still unknown, but studies reported that hydrogen peroxide may cause dissolution of inorganic material (15), reduction in calcium-phosphorus ratio (9), reduction in the organic components of dentin by protein oxidation (16) and dentin denaturation (17).

The aim of this study is to contribute with the topic, by evaluating *in vitro* the effects of different in office bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin.

Materials and methods

The buccal portions of thirty crowns of freshly extracted bovine incisors were cut in a water-refrigerated, hard tissue microtome (Minitron Struers, Copenhagen, Denmark), 1mm from the cement-enamel junction, producing the same number of blocks measuring 4 x 4 x 2mm, containing enamel and dentin.

Both surfaces of the blocks were polished successively in a polishing machine (Minitron Struers, Copenhagen, Denmark) with 400, 600 and 1200 grit silicon carbide paper (3M Brazil, Sumaré, SP, Brazil), followed by 0,3 and 0,05 µm alumina suspension (Arotec, São Paulo, SP, Brazil) on felt cloth (Arotec, São Paulo, SP, Brazil). Then, the blocks were washed in running water for 2 hours, and immersed in distilled, deionized water under ultrasonic agitation for 5 min to remove possible residues.

Silicon frames were prepared to accommodate the dental blocks without gaps in the sides, with sufficient height (5 mm) to allow space for the bleaching agent, as shown in Figure 1. This device also provided, when necessary, a hermetic sealing with the use of glass plates over and under it.

The samples were divided randomly in 6 groups, according to the bleach system to be tested, and each group was placed in position in the silicon frames, with the dentin portion facing the bleaching product. Group I was treated with Whiteness SuperEndo[®] (37% carbamide peroxide, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brazil), receiving the bleaching gel in contact with the dentin. The silicon frame was covered by dark glass plates fixed with metal clamps, simulating the “walking bleach” technique, and the device was stored at 37°C, 100% humidity. The bleaching agent was replaced every 5 days, for a total of 4 applications. Group II received the same treatment as Group I, but the bleaching agent used was Opalescence Endo[®] (35% hydrogen peroxide, Ultradent, South Jordan, UT, USA). Group III received Whiteness HP Maxx[®] (35% hydrogen peroxide, FGM Produtos

Odontológicos, Joinville, SC, Brazil), a light activated bleaching product. Activation was performed with LEDs (Brightness LaserLight, Kondortech, São Carlos, SP, Brazil) for 30 s, at a distance of 5 mm. After 5 min, the bleaching gel was removed from the samples, and the process repeated until 6 applications were performed. Group IV was treated with Opalescence Xtra[®] (35% hydrogen peroxide, Ultradent, South Jordan, UT, USA), following the same method used for group III. Group V (positive control) received tetra-hydrated sodium perborate (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) mixed with 10% hydrogen peroxide (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) (1:1, by weight), following the same technique as group I. Group VI (negative control) received the same treatment as group I, but no bleaching agent was used.

During the experimental procedures, bleaching products were removed by suction and washed thoroughly with distilled, deionized water. After the bleaching procedures, samples were fixed with 2% glutaraldehyde, washed in running water for 24 h, washed in distilled, deionized water, critical point dried and sputter coated with gold (120 s, ~70 nm) for SEM analysis. Photomicrographs (3500x magnification, 15 kV) were obtained from the samples and compared to Group VI by a single assessor, evaluating qualitatively the dentin surface for alterations.

Results

Representative photomicrographs of each group are presented from Figures 2 to 7. Samples presented mostly free of smear layer or smear plug, with open dentinal tubules. Some debris was present, probably from the abrasives used during sample preparation, and different patterns of dentin erosion were observed among the groups.

Whiteness Super Endo[®] treated samples (Group I) presented a rough surface, with even areas of fair erosion affecting intertubular dentin (Figure 2). Peritubular areas seem to be less affected by the bleaching agent.

Opalescence Endo[®] (Group II) produced localized, well delineated eroded areas on dentin (Figure 3). The depth of such erosions seems to be higher than those observed in any other group.

Samples treated with Whiteness HP Maxx[®] (Group III) generated surfaces with little or no erosion at all (Figure 4). The eventual uneven areas recorded were localized in intertubular dentin, while the peritubular dentin seems to be smoother.

Opalescence Xtra[®] treated samples (Group IV) showed to be irregular, with shallow, constant erosion covering the dentin surface (Figure 5). No perceptible differences could be noticed between intertubular and peritubular dentin regarding the erosive pattern.

Dentin exposed to sodium perborate and 10% hydrogen peroxide (Group V) presented a regular, smooth erosive pattern affecting intertubular dentin's ultrastructure (Figure 6). The peritubular dentin appears to be projected from the dentin tubule, apparently suffering less the effects of the bleaching agent.

Control group samples (Group VI) presented a smooth surface, with no visible signs of erosion (Figure 7).

Discussion

Truman (18) is believed to be the first to describe bleaching of discoloured, pulpless teeth and, since then, a variety of medicaments and techniques have been used to achieve safe and predictable aesthetic excellence (19). Currently, the most common techniques utilize peroxides as bleaching agents (20), but the side-effects and implications of this cosmetic treatment are still controversial (21).

Recently, dental bleaching agents activated by lasers, LEDs or halogen lamps are routinely used by clinicians, but the correct understanding of their implications on dental hard tissues still need more consideration.

In the present study, two light activated products (Whiteness HP Maxx[®] and Opalescence Xtra[®]) and two “walking bleach” type products (Whiteness SuperEndo[®] and Opalescence Endo[®]) were evaluated. Whiteness SuperEndo[®] contains 37% carbamide peroxide, while the others contain 35% hydrogen peroxide as active principle. Sodium perborate mixed with 10% hydrogen peroxide was used according to the “walking bleach” technique proposed by Nutting and Poe (22) as positive control group, whereas samples with no bleaching procedure performed were used as negative control.

Although the manufacturer of Whiteness SuperEndo[®] recommends only one repetition of the bleaching procedure, the instructions for Opalescence Endo[®] inform to repeat the procedure every 3 to 5 days until the desired color change is achieved. Dahl & Pallesen (19) also recommend the repetition of the “walking bleach” technique until acceptable lightening is achieved. Other authors used bleaching regimens similar to the present study (23, 24).

The ultrastructural alterations of dentin observed in this study varied greatly between groups, even when the tested products reportedly carried the same formula. While treatment with Whiteness HP Maxx[®] produced little or no morphological alterations on dentin, the other tested products caused more noticeable modifications. A previous study on the effects of Whiteness HP Maxx[®] on enamel, however, shows severe erosion and structure dissolution, as well as an increase in surface roughness (25). Another study with a similar product, used according to the walking bleach technique, reports increased dentin permeability (10).

Opalescence Xtra[®], which is also a 35% peroxide-based bleaching agent, produced a more irregular pattern on dentin, with shallow erosion areas covering the sample surface. A 22% reduction of microhardness for dentin, using this product, is reported by another study (26).

Opalescence Endo[®] produced localized, well delineated eroded areas on dentin. This may be due to the longer exposure period, since it is intended to be left inside the pulp chamber for a period of time (normally 3 to 5 days, according to the manufacturer). In this study, it was left in contact with dentin for 4 periods of 5 days each.

Even though Whiteness HP Maxx[®], Opalescence Endo[®] and Opalescence Xtra[®] are 35% hydrogen peroxide-based products, they have different pH values. The first one is alkaline (27), whereas the last is highly acidic, with a pH of 3.67 (28). Opalescence Endo[®], according to the manufacturer, has a pH of 5.0. This may have a major impact on the dentin ultrastructure, according to Sulieman et al. (29), who found the pH, and not hydrogen peroxide, to cause alterations on dentin surface morphology during bleaching procedures. Apparently, the more acidic nature of Opalescence Xtra[®] was the main responsible for the differences in ultrastructure observed when this group was compared to the group where Whiteness HP Maxx[®] was used.

Other studies, however, imply that hydrogen peroxide affects not only the inorganic components of the dental hard tissues through acidic demineralization but also attacks the relatively rich organic substance of the dentin. This effect of hydrogen peroxide on the organic substance might be due to collagen and amino acid denaturation, as proposed by some authors (15, 20, 30). This may explain the pattern of erosion found in some groups, with the intertubular dentin being more aggressively attacked by the products than peritubular dentin, since the first is less mineralized than the last. The remarkable ultrastructure alteration found for Group V

illustrates the action of hydrogen peroxide on the organic matrix of dentin and preservation of the mineral rich peritubular dentin.

Chng et al. (8) reported the peritubular dentine to be more resistant than intertubular dentine, indicating that it is the strong oxidizing effect of hydrogen peroxide on the organic matrix of intertubular dentine, rather than its acidic pH, that play a predominant role in the changes observed in intertubular dentine. This is in agreement with the present observations.

Carbamide peroxide-based product Whiteness Super Endo[®] caused mild eroded areas on dentin, even with an application regimen similar to Opalescence Endo[®], which was more aggressive. However, according to Joiner (31), degradation of carbamide peroxide would yield a maximum of 36% (w/w) of hydrogen peroxide, thus significantly reducing the final concentration of the active principle.

According to the present study, apparently both low pH and oxidation by hydrogen peroxide play a role in altering the ultrastructure of dentin during simulated internal bleaching. The use of alkaline products with reduced time of application (in-office techniques) may decrease the morphological alterations of dentin. However, whether these alterations are clinically significant or not are still to be researched.

Conclusions

The results of the present study indicate that both low pH and hydrogen peroxide oxidation play a role in altering the ultrastructure of dentin during internal dental bleaching. The use of alkaline products with reduced time of application (in-office techniques) may decrease such morphological alterations.

References

1. Lee GP, Lee MY, Lum SO, Poh RS, Lim KC. Extraradicular diffusion of hydrogen peroxide and pH changes associated with intracoronal bleaching of discoloured teeth using different bleaching agents. *Int Endod J* 2004;37:500-6.
2. Lim MY, Lum SO, Poh RS, Lee GP, Lim KC. An in vitro comparison of the bleaching efficacy of 35% carbamide peroxide with established intracoronal bleaching agents. *Int Endod J* 2004;37:483-8.
3. Carrasco LD, Guerisoli DM, Rocha MJ, Pécora JD, Fröner IC. Efficacy of intracoronal bleaching techniques with different light activation sources. *Int Endod J* 2007;40:204-8.
4. Smigel I. Laser tooth whitening. *Dent Today* 1996;15:32-6.
5. Sulieman M. An overview of bleaching techniques: History, chemistry, safety and legal aspects. *Dent Update* 2004;31:608-16.
6. Titley K, Torneck CD, Smith DC. Effect of concentrated hydrogen peroxide solution on the surface morphology of cut human dentin. *Endod Dent Traumatol* 1988;4:32-6.
7. Pecora JD, Cruzfilho AM, Sousaneto MD, Silva RG. In vitro action of various bleaching agents on the microhardness of human dentin. *Braz Dent J* 1994;5:129-34.
8. Chng HK, Ramli HN, Yapa AU, Limb CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentin. *J Dent* 2005;33:363-9.
9. 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.
10. Carrasco LD, Zanello Guerisoli DMZ, Pécora JD, Fröner IC. Evaluation of dentin permeability after light activated internal dental bleaching. *Dent Traumatol* 2007;23:30-4.

11. Madison S, Walton R. Cervical root resorption following bleaching of endodontically treated teeth. *J Endod* 1990;16:570-4.
12. Heithersay GS. Invasive cervical resorption: an analysis of potential predisposing factors. *Quintessence Int* 1999;30:83-95.
13. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of tooth-whitening gels on enamel and dentin ultrastructure--a confocal laser scanning microscopy pilot study. *Compend Contin Educ Dent Suppl* 2000;29:S29-34.
14. Zalkind M, Arwaz JR, Goldman A, Rotstein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. *Endod Dent Traumatol* 1996;12:82-8.
15. Rotstein I, Lehr Z, Gedalia I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. *J Endod* 1992;18:290-3.
16. 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.
17. Lado EA, Stanley HR, Weisman MI. Cervical resorption in bleached teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;55:78-80.
18. Truman J. Bleaching of non-vital discoloured anterior teeth. *Dent Times* 1864;1:69-72.
19. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching - a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14:292-304.
20. Farmer DS, Burcham P, Marin PD. The ability of thiourea to scavenge hydrogen peroxide and hydroxyl radicals during the intra-coronal bleaching of bloodstained root-filled teeth. *Aust Dent J* 2006;51:146-52.
21. Lewinstein I, Hirschfeld Z, Stabholz A, Rotstein I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. *J Endod* 1994;20:61-3.

22. Nutting EB, Poe GS. A new combination for bleaching teeth. *J Calif Dent Assoc* 1963;31:289-91.
23. de Oliveira DP, Teixeira EC, Ferraz CC, Teixeira FB. Effect of intracoronal bleaching agents on dentin microhardness. *J Endod*. 2007;33:460-2.
24. Carrasco LD, Guerisoli DMZ, Pécora JD, Fröner IC. Evaluation of dentin permeability after light activated internal dental bleaching. *Dent Traumatol* 2007;23:30-4.
25. Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res* 2004;18:306-11.
26. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent* 2004;92:337-42.
27. Castello RR & Monnerat AF. Avaliação das alterações estruturais em esmalte submetido ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% *Rev Bras Odontol* 2004;61:160-4.
28. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc* 2000;66:421-6.
29. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent* 2004;32:581-90.
30. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. *J Endod* 2004;30:45-50.
31. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent* 2006;34:412-9.

Figures

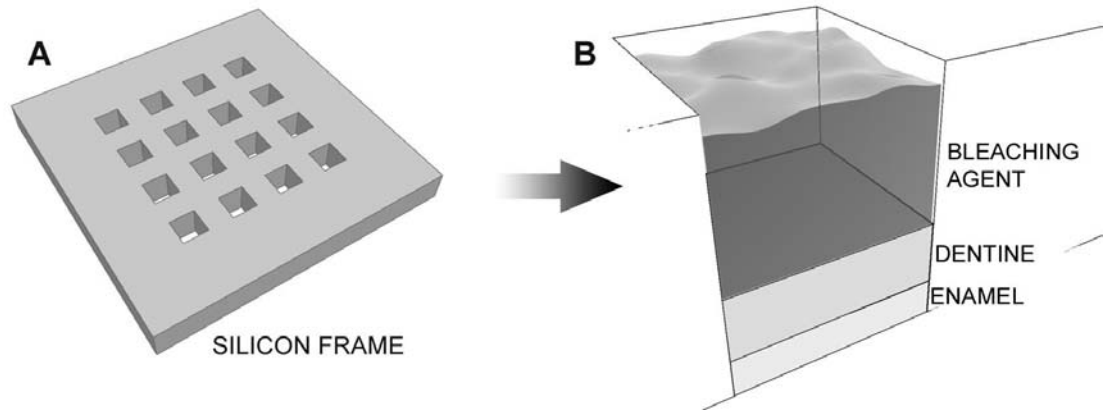


Figure 1. Schematic drawing of A) the silicon frame and B) exploded view of one of the spaces of the silicon frame, with sample placed in position and the bleaching agent applied over dentin.

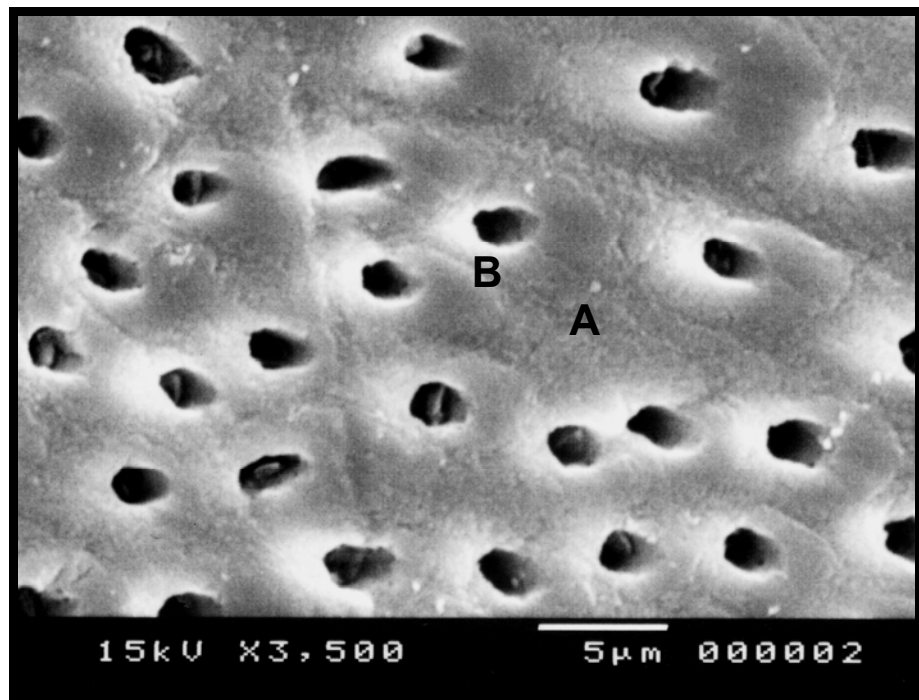


Figure 2. Photomicrograph of a dentin sample treated with Whiteness Super Endo® (Group I). Letter A indicates more affected, intertubular dentin, while B indicates peritubular dentin.

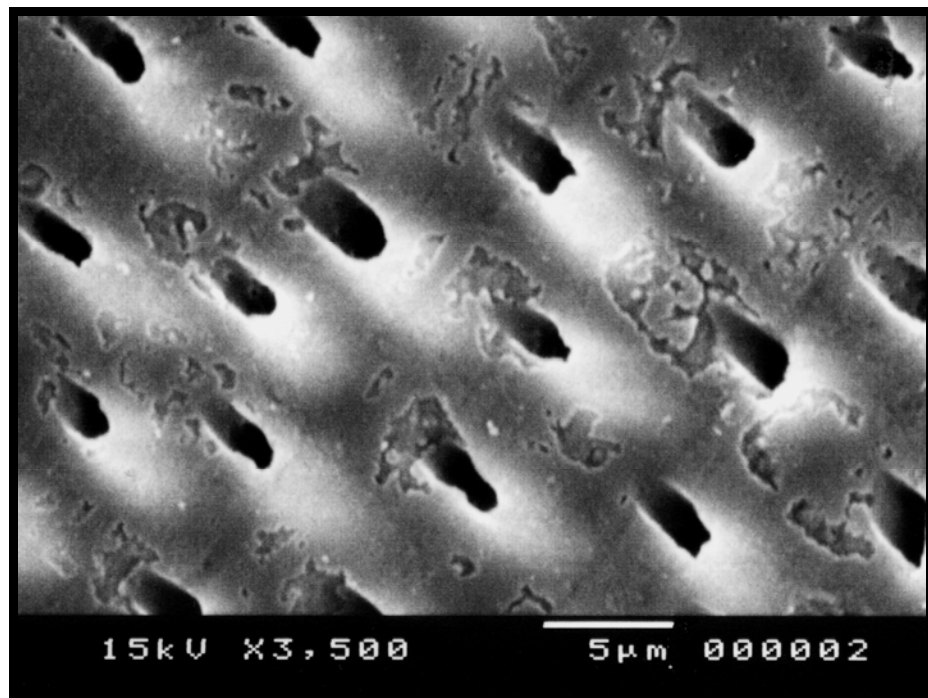


Figure 3. Photomicrograph of a dentin sample treated with Opalescence Endo® (Group II).

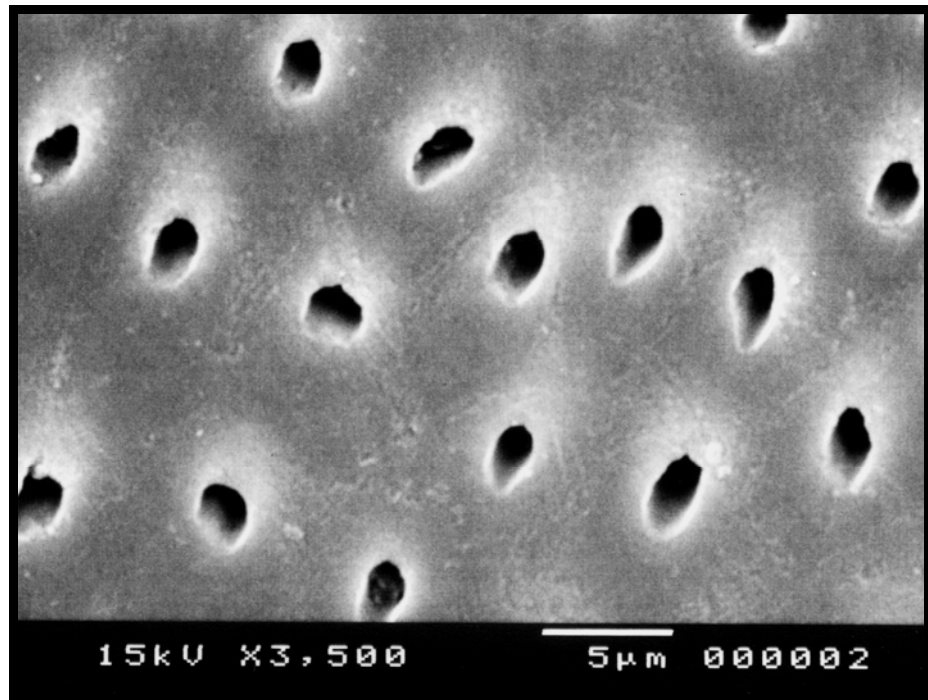


Figure 4. Photomicrograph of a dentin sample treated with Whiteness HP Maxx® (Group III).

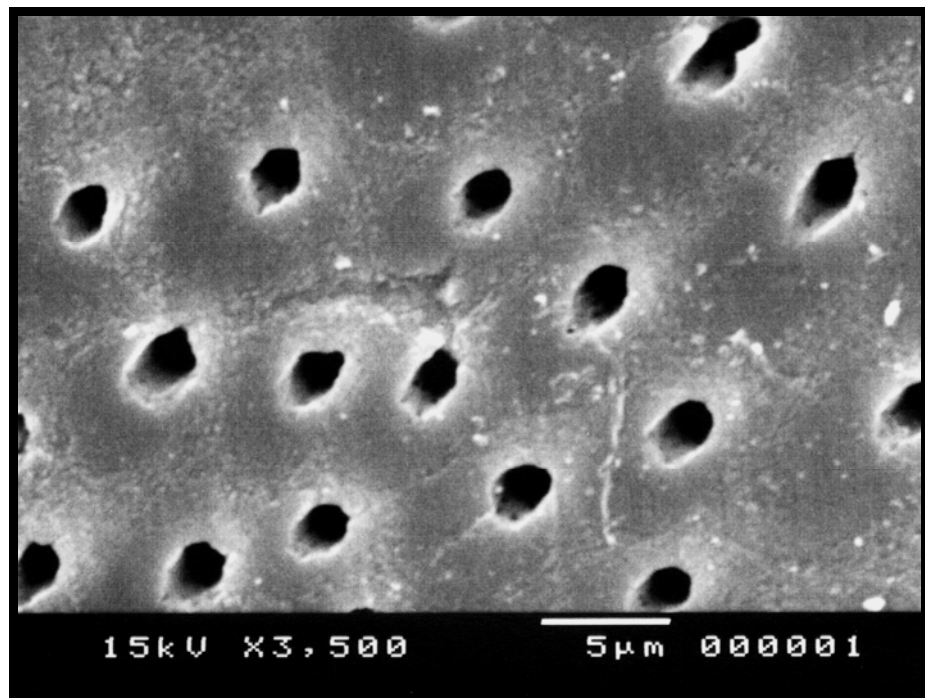


Figure 5. Photomicrograph of a dentin sample treated with Opalescence Xtra® (Group IV).

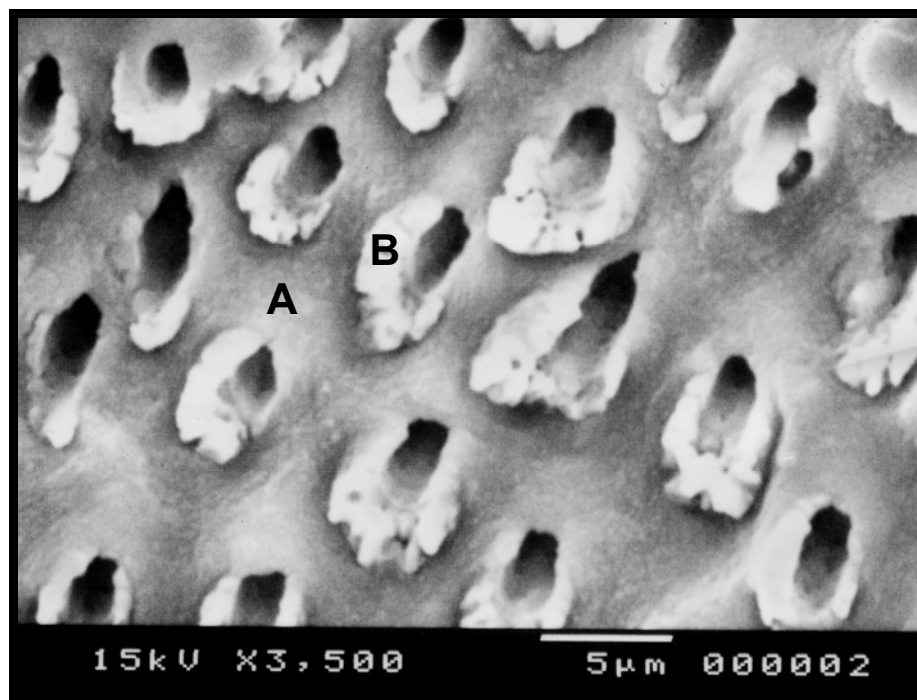


Figure 6. Photomicrograph of a dentin sample treated with sodium perborate mixed with 10% hydrogen peroxide (Group V). Letter A indicates more affected, intertubular dentin, while B indicates projected peritubular dentin.

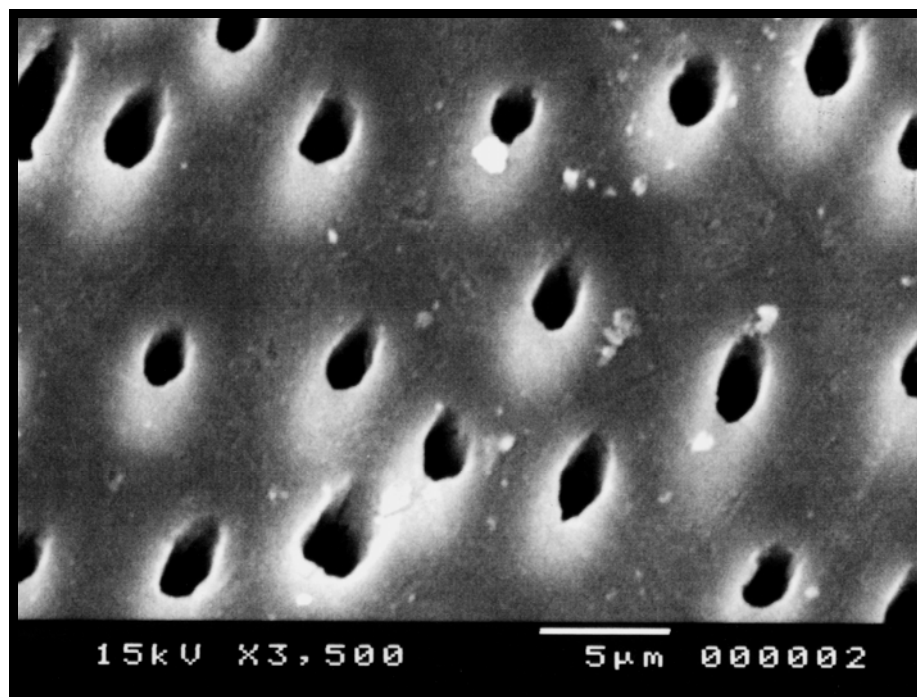


Figure 7. Photomicrograph of a dentin sample which did not undergo bleaching procedures (negative control, Group VI).

VI. Discussão

O clareamento interno de dentes escurecidos é um procedimento clínico utilizado na odontologia desde o século IXX (KIRK, 1889), sendo uma das técnicas mais freqüentemente utilizadas e que lança mão de peróxidos como agentes clareadores (FARMER et al., 2006). Entretanto os efeitos adversos e implicações deste tratamento estético ainda são controversos (LEWINSTEIN et al., 2004).

Neste estudo, dois produtos ativados por luz (Whiteness HP Maxx[®] e Opalescence Xtra[®]) e produtos utilizados na técnica convencional "walking bleach" (Whiteness SuperEndo[®] e Opalescence Endo[®]) foram avaliados. O Whiteness SuperEndo[®] é composto por peróxido de carbamida 37%, enquanto os demais contêm peróxido de hidrogênio a 35%. Como grupo controle, utilizou-se perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio a 10% de acordo com a técnica "walking bleach" proposta por NUTTING & POE (1963). Os efeitos destes tratamentos foram testados com relação à microdureza e possibilidade de alterações na superfície da dentina.

De acordo com JOINER (2006), a degradação do peróxido de carbamida libera no máximo 36% (em peso) de peróxido de hidrogênio, o que reduz

significativamente a concentração final do princípio ativo. Entretanto, em nossos resultados observamos que o Whiteness Super Endo[®] causou uma redução na microdureza (-16.97 ± 6.55 KHN) estatisticamente semelhante ao grupo que utilizou peróxido de hidrogênio à 35% também na técnica walking bleach, o Opalescence Endo[®] (-13.71 ± 8.02 KHN). O peróxido de hidrogênio, mesmo em baixa concentração reduziu a microdureza dentinária.

O Whiteness HP Maxx[®] e o Opalescence Xtra[®] são ambos sistemas fotoativáveis e compostos por peróxido de hidrogênio a 35%, porém apresentam diferentes valores de pH. O Primeiro é alcalino (CASTELLO & MONNERAT, 2004), enquanto o outro é ácido, com um pH de 3.67 (PRICE et al., 2000). Teoricamente, o agente clareador mais ácido deveria produzir maiores reduções na microdureza, mas isso não foi observado. Diferenças entre o Whiteness HP Maxx[®] ($-15,18 \pm 9,58$ KHN) e Opalescence Xtra[®] ($-11,36 \pm 8,14$ KHN) não foram estatisticamente significantes.

Os resultados deste estudo mostraram que todos os produtos testados reduziram significativamente a microdureza dentinária, exceto o perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio 10%. Resultados semelhantes referentes à produtos com peróxido de hidrogênio em sua composição foram encontrados por CHNG et al. (2002), que obteve menores valores de microdureza em dentes tratados com peróxido de hidrogênio do que naqueles em que foi aplicado apenas perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio ou perborato de sódio misturado com água. Isto também foi observado por LEWINSTEIN et al. (1994), que mostrou que o tratamento da dentina com peróxido de hidrogênio a 30% por 5 minutos reduz significativamente a sua microdureza, enquanto o perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio a 30% por 30 minutos não produziu alterações significantes.

PÉCORA et al. (1994) testou a aplicação de vários agentes clareadores diretamente sobre fragmentos de dentina por 72 h e observou que a solução de peróxido de hidrogênio a 30% causa a maior redução na microdureza dentinária, seguida pelo peróxido de carbamida a 10%. CHNG et al. (2004) encontraram resultados semelhantes com a utilização de gel de peróxido de hidrogênio à 35%, solução de peróxido de hidrogênio a 30% e gel peróxido de carbamida à 35%. Segundo LEWINSTEIN et al. (2004), ocorreu uma redução de 22% na microdureza da dentina, quando utilizou-se peróxido de hidrogênio a 35% fotoativado.

Aparentemente o reduzido tempo necessário para os produtos fotoativados restaurarem a cor não se traduziu num procedimento mais seguro quando comparado com os produtos utilizados na técnica “walking bleach”. Este estudo demonstrou que os dois sistemas causam reduções significantes na microdureza, o que pode levar ao enfraquecimento da estrutura dental.

ROTSTEIN & FRIEDMAN (1991), CHNG et al. (2002) e SULIEMAN et al. (2004) sugeriram que o pH é o fator mais significativo nas alterações da microdureza dentinária durante os procedimentos de clareamento dental. O perborato de sódio é alcalino, e pode contrabalançar a natureza ácida do peróxido de hidrogênio, reduzindo seus efeitos deletérios sobre a dentina. Isso explica porque o perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio a 10% não alterou a microdureza dentinária neste estudo. Alguns autores têm sugerido que o efeito de refrigerantes e de sucos nos tecidos mineralizados dos dentes por alguns minutos é maior do que a perda mineral causada pelo clareamento com perborato (HAYWOOD, 1992; SULIEMAN, 2004; LEE et al., 2006).

As alterações morfológicas na dentina observada neste estudo tiveram uma grande variação entre os grupos, mesmo quando os produtos testados possuíam a mesma composição. Enquanto o tratamento com Whiteness HP Maxx[®] (peróxido de hidrogênio a 35%) produziu pouca ou nenhuma alteração morfológica na

dentina, os outros produtos testados causaram alterações mais perceptíveis. Entretanto, um estudo prévio sobre os efeitos do Whiteness HP Maxx[®] no esmalte mostrou erosões severas e dissolução da estrutura, assim como um aumento na rugosidade superficial (PINTO et al., 2004). Outro estudo com um produto semelhante, utilizado na técnica walking bleach, indicou aumento na permeabilidade dentinária (CARRASCO et al., 2007^b).

Opalescence Xtra[®], que também é um agente clareador à base de peróxido de hidrogênio a 35%, produziu um padrão mais irregular na dentina, com áreas de erosões rasas cobrindo a superfície da amostra.

Embora Whiteness HP Maxx[®], Opalescence Endo[®] and Opalescence Xtra[®] sejam todos produtos à base peróxido de hidrogênio a 35%, eles possuem diferentes valores da pH. Como já relatado, o primeiro é alcalino (CASTELLO & MONNERAT, 2004), enquanto o último é ácido, com um pH de 3.67 (PRICE et al., 2000). Opalescence Endo[®], de acordo com o fabricante, possui pH igual 5.0. Isto pode ter um impacto muito grande na morfologia da dentina, de acordo com SULIEMAN et al. (2004), que relatou ser o pH, e não o peróxido de hidrogênio, o causador de alterações na morfologia superficial da dentina durante tratamentos clareadores. Talvez seja devido à isso, o fato de o Whiteness HP Maxx[®] ter se mostrado menos agressivo do que o Opalescence Xtra[®].

O longo período de exposição da dentina ao agente clareador pode ter sido responsável pelo padrão de alteração de superfície encontrado após a utilização do Opalescence Endo[®], que produziu áreas com erosões localizadas e bem delimitadas. Este material pode permanecer de 3 a 5 dias na câmara pulpar, de acordo com o fabricante. Neste estudo, ele foi deixado em contato com a dentina por 4 períodos de 5 dias cada.

Outros estudos, entretanto, sugerem que o peróxido de hidrogênio afeta não somente os componentes inorgânicos dos tecidos duros dos dentes por meio da

desmineralização pela acidez, mas também ataca a rica porção orgânica da dentina. A ação do peróxido de hidrogênio sobre as substâncias orgânicas estão direcionados para a desnaturação do colágeno e dos aminoácidos, como proposto por alguns autores (ROTSTEIN et al., 1992; KAWAMOTO & TSUJIMOTO, 2004; FARMER et al., 2006). A dentina intertubular, sendo menos mineralizada que a peritubular, foi mais agressivamente atacada pelos agentes clareadores, explicando o padrão de erosão observado em alguns grupos. A notável alteração de estrutura encontrada no Grupo V (perborato de sódio misturado com peróxido de hidrogênio a 10%) ilustra a ação do peróxido de hidrogênio na matriz orgânica da dentina e a preservação da dentina peritubular, rica em minerais.

CHNG et al., 2005 relata que a dentina peritubular é mais resistente que a dentina intertubular, indicando que é o forte efeito de oxidação do peróxido de hidrogênio na matriz orgânica da dentina intertubular, ao invés de seu pH ácido, que apresenta um papel predominante nas alterações observadas nesta dentina. Isto está de acordo com os nossos resultados.

O produto à base de peróxido de carbamida, Whiteness Super Endo[®], causou áreas com suaves erosões na dentina, apesar de ter sido utilizado com os mesmos parâmetros do Opalescence Endo[®], que foi mais agressivo. Entretanto, o peróxido de carbamida, como já explicado, libera no máximo 36% (em peso) de peróxido de hidrogênio (JOINER, 2006), ou seja, apresenta menor concentração do princípio ativo.

De acordo com este estudo, aparentemente, ambos pH e oxidação do peróxido de hidrogênio apresentam o papel de alterar a estrutura da dentina durante o clareamento interno. A utilização de produtos alcalinos com um tempo reduzido de aplicação (técnicas fotoativadas) podem diminuir as alterações morfológicas na dentina. Entretanto, se estas alterações são significantes clinicamente ou não ainda necessita ser pesquisado.

V. Conclusões Gerais

1. Todos os sistemas clareadores testados, à base de peróxido de hidrogênio a 35% e peróxido de carbamida a 37%, causaram uma significativa redução na microdureza dentinária no clareamento dental interno.
2. O menor tempo de aplicação dos sistemas fotoativados não reduziu as alterações na microdureza da dentina.
3. O peróxido de hidrogênio misturado com perborato de sódio não afetou a microdureza dentinária.
4. Os sistemas clareadores testados produziram variados padrões de alteração morfológica na dentina bovina.
5. Tanto o pH, como as propriedades oxidantes do peróxido de hidrogênio são fatores que podem alterar a morfologia superficial da dentina bovina durante o clareamento interno.
6. A utilização de produtos alcalinos e com um tempo reduzido de aplicação (técnicas fotoativadas) podem diminuir as alterações morfológicas na dentina.

Referências Bibliográficas

ARENDS, J.; ten BOSCH, J. J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. **J. Dent. Res.**, v.71, Spec n°, p.924-8, 1992.

AUN, C. E.; MOURA, A. A. M. Clareamento dental. In: PAIVA, J. G.; ANTONIAZZI, J. H. **Endodontia: bases para a prática clínica**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1988. p.759-777.

BAIK, J. W.; RUEGGERBERG, F. A.; LIEWEHR, F. R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise. **J. Esthet. Rest. Dent.**, v.13, n.6, p.370-8, 2001.

BARATIERI, L. N., MONTEIRO Jr., S.; ANDRADA, M. A. C.; VIEIRA, L. C. C. **Clareamento dental**. Chicago: Quintessence, 1993.

BARBOSA, S. V.; SAFAVI, K. E.; SPÄNGBERG, S. W. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentin. **Int. Endod. J.**, v.27, n.6, p.309-12, 1994.

BASTING, R. T.; RODRIGUES JUNIOR A. L.; SERRA, M. C. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. **Oper. Dent.**, v.26, n.6, p.531-9, 2001.

BEM-AMAR, A.; LIBERMAN, R.; GORFIL, C.; BERNSTEIN, Y. Effect of mouthguard bleaching on enamel surface. **Amer. J. Dent.**, v.8, n.1, p.29-32, 1995.

BOGUE, E. A. Bleaching teeth. **Dental Cosmos**, v.14, n.1, p.1-3, 1872.

CARRASCO, L. D.; GUERISOLI, D. M. Z.; ROCHA, M. J.; PÉCORÁ, J. D.; FRÖNER, I. C. Efficacy of intracoronal bleaching techniques with different light activation sources. **Int. Endod. J.**, v. 40, n.3, p.204-8, 2007^a.

CARRASCO, L. D.; GUERISOLI, D. M. Z.; PÉCORÁ, J. D.; FRÖNER, I. C. Evaluation of dentin permeability after light activated internal dental bleaching. **Dent. Traumatol.**, v.23, n.1, p.30-4, 2007^b.

CARRASCO, L. D., FRÖNER, I. C., CORONA, S. A. M., PÉCORÁ, J. D. Effect of internal bleaching agents on dentinal permeability of non-vital teeth: quantitative assessment. **Dent. Traumatol.**, v.19, n.2, p.85-9, 2003.

CARRASCO, L. D.; FRÖNER, I. C.; PÉCORÁ, J. D. In vitro assessment of dentinal permeability after the use of ultrasonic-activated irrigants in the pulp chamber before internal dental bleaching. **Dent. Traumatol.**, v.20, n.3, p.164-8, 2004.

CASTELLO R. R.; MONNERAT, A. F. Avaliação das alterações estruturais em esmalte submetido ao clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%. **Rev. Bras. Odontol.**, v.61, p.160-4, 2004.

CHARPLE, J. A. Restoring discolored teeth to normal. **Dental Cosmos**, v.19, n.9, p.498-499, 1877.

CHNG, H. K.; PALAMARA, J. E.; MESSER, H. H. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. **J. Endod.**, v.28, n.2, p.62-67, 2002.

CHNG, H. K.; RAMLI, H. N.; YAPA, A. U.; LIMB, C. T. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentin. **J. Dent.**, v.33, n.5, p.363-9, 2005.

CHNG, H. K.; YAP, A. U.; WATTANAPAYUNGKUL, P.; SIM, C. P. Effect of traditional and alternative intracoronal bleaching agents on microhardness of human dentine. **J. Oral. Rehabil.**, v.31,n.8, p.811-6, 2004.

COHEN, S. A simplified method for bleaching discolored teeth. **Dent. Dig.**, v.74, n.7, p.301-303, 1968.

DAHLSTRON, S. W. Hydroxy radical activity in bleached root filled teeth. **Aust. Endod. Newsletter**, v.19, n.1, p.30-31, 1993.

de FREITAS, P. M.; BASTING, R. T.; RODRIGUES, J. A.; SERRA, M. C. Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different time intervals. **Quintessence Int**, v.33, n.5, p.370-5, 2002.

de FREITAS, P. M.; TURSSI, C. P.; HARA, A. T.; SERRA, M. C. Dentin microhardness during and after whitening treatments. **Quintessence Int**, v.35, n.5, p.411-7, 2004.

de MARCO, F. F.; GARONE NETO, N. Efeitos adversos do clareamento em dentes edodonticamente tratados. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v.9, n.1, p.51-58, 1995.

DEZOTTI M. S. G.; SOUZA Jr M. H.; NISHIYAMA C. K. Avaliação da variação de pH e da permeabilidade da dentina cervical em dentes submetidos ao tratamento clareador. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v.16, n.3, p.263-8, 2002.

DUTRA, P. M. M.; ALVES, M. A. G.; BARREIROS, I. D.; MENDONÇA, L. L.; FERREIRA, L. G. N. Tratamento clareador com peróxido de carbamida Whiteness Super Endo (FGM) a 37% em dentes não vitais: uma técnica. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v.15, p.64., 2001.

ERNST, C. P.; MARROQUIN, B. B.; WILLERSHAUSEN-ZONNCHEN, B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. **Quintessence Int.**, v.27, n.1, p.53-6, 1996.

FARMER, D. S.; BURCHAM, P.; MARIN, P. D. The ability of thiourea to scavenge hydrogen peroxide and hydroxyl radicals during the intra-coronal bleaching of bloodstained root-filled teeth. **Aust. Dent. J.**, v.51, n.2, p.146-52, 2006.

FREEDMAN, G.; REYTO, R. Laser bleaching: A clinical survey. **Dent. Today**, v.16, n.5, p.106, 1997.

GARBER, D. A. Dentist-monitored bleaching: a discussion of combination and laser bleaching. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.128 (suppl), p.26S-30S, 1997.

GIÓIA T. **Avaliação de quatro técnicas de clareamento para dentes não vitalizados: Hi-Lite ativado por luz halógena, peróxido de hidrogênio ativado por laser de argônio, peróxido de hidrogênio ativado por espátula aquecida e “walking bleaching”-estudo, *in vitro*, em dentes bovinos.** 2000. 163p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GLOCKNER, K.; HULLA, H.; EBELESEDER, K.; STADTLER, P. Five-year follow up of internal bleaching. **Braz. Dent. J.**, v.10, n.2, p.105-110, 1999.

GOKAY, O.; YILMAZ, F.; AKIN, S.; TUNCBILEK, M.; ERTAN, R. Penetration of the pulp chamber by bleaching agents in teeth restored with various restorative materials. **J. Endod.**, v.26, n.2, p.92-4, 2000.

GOLDSTEIN, R. **Esthetics in Dentistry.** Philadelphia: Lippincott, 1976.

GROSSMAN, L. I. **Endodontia prática.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976.

GULTZ, J.; KAIM, J.; SCHERER, W.; GUPTA, H. Two in-office bleaching systems: a scanning electron microscope study. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v.20, n.10, p.965-8, 970; quiz 972, 1999.

HAYWOOD, V. B. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. **Quintessence Int.**, v.23, n.7, p.471-88, 1992.

HAYWOOD, V. B; LEECH, T.; HEYMANN, H. O.; CRUMPLER, D.; BRUGGERS, K. Nightguard vital bleaching: effects on enamel surface texture and diffusion. **Quintessence Int.**, v.21, n.10, p.801-4, 1990.

JOINER, A. The bleaching of teeth: a review of the literature. **J. Dent.**, v.34, n.7, p.412-9, 2006.

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

JOSEY, A. L.; MEYERS, I. A.; ROMANIUK, K.; SYMONS, A. L. The effect of a vital bleaching technique on enamel surface morphology and the bonding of composite resin to enamel. **J. Oral. Rehabil.**, v.2, n.4, p.244-50, 1996.

KANEKO, J.; INOUE, S.; KAWAKAMI, S.; SANO, H. Bleaching effect of sodium percarbonate on discolored pulpless teeth in vitro. **J. Endod.**, v.26, n.1, p.25-28, 2000.

KASHIMA-TANAKA, M.; TSUJIMOTO, Y.; KAWAMOTO, K.; SENDA, N.; ITO, K.; YAMAZAKI, M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. **J. Endod.**, v.29, n.2, p.141-143, 2003.

KAWAMOTO, K.; TSUJIMOTO, Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. **J. Endod.**, v.30, n.1, p.45-50, 2004.

KIRK, E. C. Sodium peroxide (Na_2O_2): a new dental bleaching agent and antiseptic. **Dental Cosmos**, v.35, n.2, p.192-198, 1893.

KIRK, E. C. The chemical bleaching teeth. **Dental Cosmos**, v.3, p.273-83, 1889.

KODAKA, T.; TOKO, T.; DEBARI, K.; HISAMITSU, H.; OHMORI, A.; KAWATA, S. Application of the environmental SEM in human dentin bleached with hydrogen peroxide in vitro. **J. Electron. Microsc.**, v.41, n.5, p.381-6, 1992.

LACERDA, A. G.; NISHIYAMA, C. K.; SOUZA JR., M. H. S.; FRACISCHONE, C. E.; ISHIKIRIAMA, A. Clareamento de dentes: técnica alternativa usando aparelho de ultrasom. **RGO**, v.34, n.8, p.493-6, 1986.

LAI, Y. L.; YANG, M. L.; LEE, S. Y. Microhardness and color changes of human dentin with repeated intracoronal bleaching. **Oper. Dent.**, v.28, n.6, p.786-92, 2003.

LEE, C. Q.; COBB, C. M.; ZARGARTALEBI, F.; HU, N. Effect of bleaching on microhardness, morphology, and color of enamel. **Gen. Dent.**, v.43, n.2, p.158-60, 162, 1995.

LEE, G. P.; LEE, M. Y.; LUM, S. O. Y.; POH, R. S. C.; LIM, K. C. Extraradicular diffusion of hydrogen peroxide and pH changes associated with intracoronal bleaching of discoloured teeth using different bleaching agents. **Int. Endod. J.**, v.37, n.7, p.500-6, 2004.

LEE, K. H.; KIM, H.; KIM, K. H.; KWON, Y. H. Mineral loss from bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. **J. Oral Rehabil.**, v.33, n.3, p.229-33, 2006.

LEWINSTEIN, I.; FUHRER, N.; CHURARU, N.; CARDASH, H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. **J. Prosthet. Dent.**, v.92, n.4, p.337-42, 2004.

LEWINSTEIN, I.; HIRSCHFELD, Z.; STABHOLZ, A.; ROTSTEIN, I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. **J. Endod.**, v.20, n.2, p.61-3, 1994.

LORENZO, J. A.; GUMBAU, G. C.; SANCHEZ, C. C.; NAVARRO, L. F.; PUY, M. C. L. Clinical study of a halogen light-activated bleaching agent in nonvital teeth: case reports. **Quintessence Int.**, v.27, n.6, p.383-388, 1996.

MacISAAC, A. M.; HOEN, M. M. Intracoronal bleaching: concerns and considerations. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.60, n.1, p.57-64, 1994.

MANTESSO, A.; FRÖNER, I. C.; PÉCORÁ, J. D. Alteração da permeabilidade dentinária frente a vários agentes branqueadores. Estudo in vitro. **STOMA**, v. 39, p.49-54, 1996.

MARIN, P. Bleaching of root filled teeth. **Aust. Endod. Newsletter**, v.19, n.1, p.13, 1993.

McGUGIN, R. S.; BABIN, J. F.; MEYER, B. J. Alteration in human enamel surface morphology following vital bleaching. **J. Prosth. Dent.**, v.68, n.5, p.754-60, 1992.

MONDELLI, J.; GALAN Jr, J.; ISHIKIRIAMA, A.; CORADAZZI, J. L.; NAVARRO, M.F.L.; PEREIRA, J. C.; FRANCISCHONE, C. E.; FRANCO, E. B. **Restaurações estéticas**. São Paulo: Editora Savier, 1984.

NUTTING, E. B.; POE, G. S. A new combination for bleaching teeth. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 31, p.289-91, 1963.

NUTTING, E. B.; POE, G. S. A new combination for bleaching teeth. **Dent. Clin. North. Am.**, v.10, p.655-62, 1976.

NUTTING, E. C.; POE, G. S. Chemical bleaching of discolored endodontically treated teeth. **Dent. Clin. North. Am.**, p.655-662, 1967.

PAIVA, J. G.; ANTONIAZZI, J. H. **Endodontia: bases para a prática clínica**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1988.

PÉCORÁ, J. D.; CRUZ FILHO, A. M.; SOUSA NETO, M. D.; SILVA, R. G. In vitro action of various bleaching agents on the microhardness of human dentin. **Braz. Dent. J.**, v.5, n.2, p. 129-134, 1994.

PÉCORA, J. D.; SOUSA NETO, M. D.; SILVA, R. G.; SAQUY, P. C.; VANSAN, L. P.; CRUZ FILHO, A. M.; COSTA, W. **Guia de clareamento dental**. São Paulo: editora Santos, 1996.

PERRINE, G. A.; REICHL, R. B.; BAISDEN, M. K.; HONDRUM, S. O. Comparison of 10% carbamide peroxide and sodium perborate for intracoronal bleaching. **Gen. Dent.**, v.48, n.3, p.264-70. 2000.

PINTO, C. F.; OLIVEIRA, R.; CAVALLI, V.; GIANNINI, M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. **Braz. Oral. Res.**, v.18, n.4., p.306-11. 2004

POTOCNIK, I.; KOSEC, L.; GASPERSIC, D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. **J. Endod.**, v.26, n.4, p.203-6, 2000.

PRICE, R. B.; SEDAROUS, M.; HILTZ, G. S. The pH of tooth-whitening products. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.66, p.421-6, 2000.

REYTO, R. Laser tooth whitening. **Dent Clin North Am**, v.42, n.4, p.755-63, 1998.

ROTSTEIN, I.; DANKNER, E.; GOLDMAN, A.; HELING, I.; STABHOLZ, A.; ZALKIND, M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. **J. Endod.**, v.22, n.1, p.23-5, 1996.

ROTSTEIN, I.; FRIEDMAN, S. pH variation among materials used for intracoronal bleaching. **J. Endod.**, v.17, n.8, p.376-9, 1991.

ROTSTEIN, I.; LEHR, Z.; GEDALIA, I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. **J. Endod.**, v.18, n.6, p.290-3, 1992.

SHANNON, H. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide. **Quintessence Int.**, v.24, n.1, p.39-44, 1993.

SMIGEL, I. Laser tooth whitening. **Dent. Today**, v.15, n.8, p.32-36, 1996.

SPASSER, H. A simple bleaching technique using sodium perborate. **N. Y. State Dent. J.**, v.27, n.7, p.332-334, 1961.

SULIEMAN, M. An overview of bleaching techniques: History, chemistry, safety and legal aspects. **Dent. Update**, v.31, n.10, p.608-10, 612-4, 616, 2004.

SULIEMAN, M.; ADDY, M.; MACDONALD, E.; REES, J. S. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. **J. Dent.**, v.32, n.7, p.581-90, 2004.

SUN, G. The role of lasers in dentistry. **Dent. Clin. North. Am.**, v.44, n.4, p.831-50, 2000.

TAM, L. E.; LIM, M.; KHANNA, S. Effect of direct peroxide bleach application to bovine dentin on flexural strength and modulus in vitro. **J. Dent.**, v.33, n.6, p.451-8, 2005.

TANJI, E. Y.; PELINO, J. E. P. O clareamento dental e o laser. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v.56, n.5, p.387, 2002.

TEIXEIRA, E. C.; HARA, A. T.; SERRA, M. C. Use of 37% carbamide peroxide in the walking bleach technique: a case report. **Quintessence Int.**, v.35, n.2, p.97-102, 2004.

TONG, L. S. M.; PANG, M. K.; MOK, N. Y.; KING, N. M.; WEI, S. H. The effects of etching, micro-abrasion, and bleaching on surface enamel. **J. Dent. Res.**, v.72, n.1, p.67-71, 1993.

TORRES, C. R.G.; BORGES, A. B.; KUBO, C. H.; GONÇALVES, S. E. P.; ARAÚJO, R. M.; CELASCHI, S.; GIORDANO, C.; ARCAS, F. **Clareamento dental com fontes híbridas LED-laser**. Taubaté: Evidência Atual editora, 2004. 139p.

TRUMAN, J. Bleaching teeth. **Dental Cosmos**, v.23, n.6, p.281-288, 1881.

TURSSI, C. P.; SCHIAVONI, R. J.; SERRA, M. C.; FRÖNER, I. C. Permeability of enamel following light-activated power bleaching. **Gen. Dent.**, v. 54, n. 5, p. 323-6, 2006.

UNLU, N.; COBANKARA, F. K.; ALTINOZ, C.; OZER, F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. **J. Oral. Rehabil.**, v.31, n.1, p.57-61, 2004.

WANDERA, A.; FEIGAL, R. J.; DOUGLAS, W. H.; PINTADO, M. R. Home-use tooth bleaching agents: an in vitro study on quantitative effects on enamel, dentin, and cementum. **Quintessence Int.**, v.25, n.8, p.541-6, 1994.

WESTLAKE, A. Bleaching teeth by eletricity. **Am. J. Dent. Sci.**, v.29, p.101, 1895.

WHITE, D. J.; KOZAK, K. M.; ZOLADZ, J. R.; DUSCHNER, H. J.; GOTZ, H. Effects of tooth-whitening gels on enamel and dentin ultrastructure--a confocal laser scanningmicroscopy pilot study. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v.29, Suppl. quiz S43, p.S29-34, 2000

ZALKIND, M.; ARWAZ, J. R.; GOLDMAN, A.; ROTSTEIN, I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. **Endod. Dent. Traumatol.**, v.12, n.2, p.82-8, 1996.

ZANIN, F.; BRUGNERA Jr, A. **Clareamento dental com Luz-Laser**. Ponta Grossa: Editora RGO, 2002.

ZANIN, F.; BRUGNERA Jr, A.; MARCHESAN, M. A.; PÉCOR, J. D. Laser and LED external teeth-bleaching. **Laser Dent.**, v.5, n.2, p.68-72, 2004.

Anexos

De: <lars.andersson@hsc.edu.kw>
Para: <daniilo.zanello@uol.com.br>
Enviada em: terça-feira, 28 de agosto de 2007 02:55
Anexar: DT-Production-Services.PDF
Assunto: Dental Traumatology - Decision on Manuscript ID DT-04-07-OA-0098.R1

28-Aug-2007

Dear Prof. Danilo Mathias Guerisoli,

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Effect of different bleaching systems on the ultrastructure of bovine dentin" in its current form for publication in the Dental Traumatology.

Thank you for your fine contribution. We look forward to your continued contributions to the Journal.

The manuscript now becomes the copyright of this Journal. In accordance with accepted practice, the research findings reported in this paper must not appear in another publication before its publication in this journal.

As part of the Journal's continued commitment to its authors, the administrator and publisher wish to keep you informed about what will happen next and, as the attached paper contains information regarding journal publication and services for authors, you may wish to save it for future reference.

Sincerely,
Prof. Lars Andersson
Editor-in-Chief Dental Traumatology

_____ NOD32 2467 (20070816) Information _____

This message was checked by NOD32 antivirus system.
<http://www.eset.com>

De: The Journal of Endodontics
Para: danilo.zanello@uol.com.br
Data: 09/09/2007 00:26
Assunto: Submission Confirmation for Effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentin: an in vitro study

Mensagem

Dear Dr. Guerisoli,

Your submission entitled "Effect of different bleaching systems on the microhardness of bovine dentin: an in vitro study" has been received by the Journal of Endodontics

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the JOE web site as an author.

The URL is <http://joe.edmgr.com/>.
your username: Zanello
your password: 051174

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to the JOE.

Kind regards,

Journal of Endodontics

Anexos