



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITO DE DOIS GÉIS DE
BRANQUEAMENTO *IN-OFFICE*, NA COMPOSIÇÃO E
MORFOLOGIA DO ESMALTE DENTÁRIO**

Trabalho submetido por
Susana Filipa Martins dos Santos Barroso
Para obtenção de grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2014



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITO DE DOIS GÉIS DE
BRANQUEAMENTO *IN-OFFICE*, NA COMPOSIÇÃO E
MORFOLOGIA DO ESMALTE DENTÁRIO**

Trabalho submetido por
Susana Filipa Martins dos Santos Barroso
Para obtenção de grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professor Doutor Mário Polido

Setembro de 2014

DEDICATÓRIA

A toda a minha Família, Mãe, Pai e Irmão, por serem o meu porto de abrigo todos os dias, por me terem ensinado a ser a pessoa que sou hoje, e por estarem ao meu lado sempre, incondicionalmente. Tenho um orgulho enorme em vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor Doutor Mário Polido pela oportunidade, pelo apoio prestado, dedicação e disponibilidade ao longo de todo este projeto. Sem a sua presença, não teria sido possível.

À Professora Doutora Ana Mano Azul por todo o apoio, ajuda e disponibilidade que sempre demonstrou em todos os momentos.

À Doutora Alexandra Figueiredo por toda a sua simpatia, prontidão, dedicação e disponibilidade. Sem dúvida fundamental para a análise de resultados através da Microscopia de Raio-X de Fluorescência por Dispersão do Comprimento de Onda.

Ao Professor Doutor José Brito por toda a ajuda, nomeadamente na análise através da Microscopia de Raio-X de Fluorescência por Dispersão do Comprimento de Onda e essencialmente pela análise estatística referente ao presente estudo.

Às amigas do coração, Juliana, Diana, Cláudia, Marta M, Marta V. e Joana, que me acompanharam nesta aventura de 5 anos. Obrigada por todos os momentos memoráveis. Com vocês valeu a pena.

À AE-ISCSEM por me ter recebido tão bem, e por me proporcionar momentos inesquecíveis. Levo comigo no coração.

A todos os meus amigos, colegas e Professores que me acompanharam durante todo este percurso, e que me viram crescer.

Por último, mas não menos importante, a toda a minha Família, Pais e Irmão por estarem ao meu lado durante todos estes anos, e por me ensinarem a ser quem sou hoje.

RESUMO

Objetivos: Avaliar alterações na composição e morfologia do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento dentário.

Materiais e Métodos: Foram utilizados 16 molares, sem cáries para confeccionar 32 amostras. As 32 amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais: dois grupos de estudo A (n=15) e B (n=15) e um grupo controlo (n=2). Aos grupos de estudo foram atribuídos respetivamente dois géis de branqueamento com diferentes concentrações. Antes de iniciar o procedimento, as amostras do grupo A e B foram sujeitas a uma composição elementar inicial. Após análise da composição, ao grupo A foi aplicado o gel de branqueamento Perfect Bleach Office+, com 35% de PH, enquanto ao grupo B foi aplicado o gel de branqueamento Pola Office+, com 6% de PH. Em ambos os grupos, as amostras 1-5 foram sujeitas a uma aplicação do gel, as amostras 6-10 foram sujeitas a duas aplicações, e as amostras 11-15 foram sujeitas a três aplicações do respetivo gel. Após feitas as aplicações, as amostras foram analisadas pelo método WDXRF, para analisar a composição elementar após tratamento. Posteriormente à análise final da composição, as amostras foram preparadas para observação em SEM.

Resultados: Após análise através do método WDXRF verificou-se haver alterações significativas na composição de cálcio e flúor do esmalte dentário em ambos os géis de branqueamento. Pela observação das micrografias obtidas por SEM verificaram-se alterações na superfície do esmalte nas amostras sujeitas aos dois géis de branqueamento.

Conclusões: Após análise da composição elementar pelo método WDXRF verificou-se um aumento significativo de cálcio e fósforo após aplicação de ambos os géis. Através do SEM observou-se alterações na morfologia do esmalte, quando sujeito a ambos os géis de branqueamento. Estas alterações intensificaram-se com o aumento do número de aplicações.

Palavras-Chave: Branqueamento, esmalte, morfologia, composição

ABSTRACT

Aim: Changes evaluation in the composition and morphology of enamel when subjected to the action of two tooth whitening gels.

Materials and Methods: Sixteen healthy molars were used to make 32 samples. Each sample was divided in three experimental groups: two study groups: A (n= 15), B (n=15) and one control group (n=2). Each study group was assigned with one of the two bleaching gels. Before starting the procedure, group A and B's samples were subjected to a baseline analysis of their elemental composition. After analysis, Perfect Bleach Office + with 35% HP was applied to group A and Pola Office + with 6% PH was applied to group B. In both groups, samples 1-5 were subjected to one gel application, samples 6-10 two applications, and finally samples 11-15 were subjected to three applications of the respective gel. After all applications samples were analyzed by WDXRF method in order to analyze the elemental composition after treatment. After the final analysis two samples of each group were prepared for SEM observation.

Results: After WDXRF analyze, was found significant changes in the composition of calcium and phosphorus composition in samples subjected to both bleaching gels. By SEM observation was observed changes in enamel morphology in samples subjected to both bleaching gels.

Conclusions: After analysis of elemental composition by WDXRF method there was a significant increase of calcium and phosphorus after application of both gels. Through SEM observation there was changes in the morphology of enamel when subjected to both bleaching gels. These changes increased by the increasing number of applications.

Keywords: Bleaching, enamel, morphology, composition.

ÍNDICE

I.INTRODUÇÃO	13
1. Dente	13
1.1. Esmalte	13
1.1.1. Propriedades Físicas	14
1.1.2. Propriedades Químicas	15
1.1.3. Permeabilidade do Esmalte.....	16
1.2. Dentina	16
1.2.1. Propriedades Físicas	17
1.2.2. Propriedades Químicas	17
2. Fundamentos do Branqueamento Dentário	18
2.1. Cor	18
2.2. Mecanismo de Ação	20
2.3. Fatores que Influenciam o Branqueamento	22
2.3.1. Tipos de Branqueamento Dentário	22
2.3.2. Concentração e Tempo	22
2.3.3. Calor e Luz.....	22
2.3.4. pH.....	23
2.4. Indicações e Contraindicações	24
2.5. Efeitos Secundários	25
2.5.1. Sensibilidade Dentária	25
2.5.2 Efeitos no Esmalte e Dentina.....	26
2.5.3. Irritação Gengival e Mucosa.....	27
2.5.4. Irritação do Tracto GastroIntestinal.....	28
3. Sistema de Branqueamento Dentário	28
3.1. Branqueamento de Dentes Não Vitais	28
3.1.1. Branqueamento Interno	29
3.1.1.1. Técnica Walking-Bleach.....	29
3.1.1.2. Técnica Termocatalítica.....	30
3.1.2. Branqueamento Externo	30
3.1.3 Técnica Combinada	31

3.2. Branqueamento de Dentes Vitais	31
3.2.1. Branqueamento em Ambulatório	31
3.2.2. Branqueamento In-Office	32
3.2.3. Branqueamento Combinado	33
3.2.4. Branqueamento com Produtos de Venda Livre	33
4. Análise Instrumental	34
4.1. Fluorescência de Raio-X por Dispersão de Comprimento de Onda (WDXRF)	34
4.2. Microscópio Eletrônico de Varrimento	35
 II. OBJETIVO	36
Objetivo	36
Hipóteses de Estudo	36
 III. MATERIAIS E MÉTODOS	36
Protocolo Experimental	36
Análise Estatística	48
 IV. RESULTADOS	49
1. Resultados WDXRF	49
2. Resultados Microscópio Eletrônico de Varrimento	53
 V. Discussão	58
1. WDCRF	58
2. Microscópio Eletrônico de Varrimento	62
 VI. CONCLUSÃO	67
 VII. BIBLIOGRAFIA	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Espectro Eletromagnético	19
Figura 2 – Sistema de Cor de Munsell	19
Figura 3 – Esquema do mecanismo de ação do peróxido de hidrogénio	21
Figura 4 – Sistema Pioneer S4	35
Figura 5 – Gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) com 35% Peróxido de Hidrogénio; b) Gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) com 6% Peróxido de Hidrogénio	37
Figura 6 – Remoção do tecido orgânico com recurso a curetas	39
Figura 7 – a) e b) Fixação dos dentes aos blocos com cera amarela colante para posterior corte	39
Figura 8 – a) Micrótomo de tecidos duros Strues Accuton-50; b) Corte do dente	40
Figura 9 – Interior da câmara pulpar	40
Figura 10 – Confeção da inclusão das amostras em resina époxi	41
Figura 11 – a) Espécimes grupo A; b) Espécimes grupo B	42
Figura 12 – a) Porta-amostras; b) Microscópio de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda	42
Figura 13 – a) Primeira aplicação do gel no grupo A; b) Primeira aplicação do gel no grupo B	43
Figura 14 – a) Segunda aplicação do gel no grupo A; b) Segunda aplicação do gel no grupo B	44
Figura 15 – a) Terceira aplicação do gel no grupo A; b) Terceira aplicação do gel no grupo B	45
Figura 16 – Álcool com diferentes concentrações para desidratação das amostras	46
Figura 17 – a) Colocação da amostra na base metálica com recurso a fita condutora; b) e c) Colocação das amostras em vácuo	47
Figura 18 – Amostras após sofrerem metalização	47
Figura 19 – Microscópio Eletrónico de Varrimento	47

Figura 20 – Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 1000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações	55
Figura 21 – Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 1000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.....	55
Figura 22 – Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 3000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações	56
Figura 23 – Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 3000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.....	56
Figura 24 – Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 5000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações	57
Figura 25 – Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 5000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.....	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos géis de branqueamento utilizados	37
Tabela 2 – Distribuição das amostras	38
Tabela 3 – Características da Resina Epoxi, EpoFix, Strues	41
Tabela 4 – Resultados iniciais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo ao qual seria sujeito ao gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland), 6% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime.....	50
Tabela 5 – Resultados iniciais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo ao qual seria sujeito ao gel de branqueamento Perfect Bleach+ (VOCO, Cuxhaven, Germany), 35% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime	50
Tabela 6 – Resultados finais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo ao qual seria sujeito ao gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland), 6% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime.....	51
Tabela 7 – Resultados finais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo ao qual seria sujeito ao gel de branqueamento Perfect Bleach+ (VOCO, Cuxhaven, Germany), 35% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime	51

LISTA DE ABREVIATURAS

PH – Peróxido de Hidrogénio

ISO – Internacional Organization for Standartization

LED – Light Emitting Diode

ADA – American Dental Association

ACP - Fosfato de Cálcio Amorfo

CPP-ACP – Fosfato de cálcio fosfopeptídeo amorfo

WDXRF – Fluorescência de Raio-X por Dispersão de Comprimento de Onda

SEM – Scanning Electron Microscopy

HMDS – Hexamethyldisilazano

Ca – Cálcio

P – Fósforo

F – Flúor

Cl – Cloro

Zn – Zinco

Cu – Cobre

Mg - Magnésio

S – Enxofre

Sr – Estrôncio

Fe - Ferro

µEDXRF - Micro Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectromery

FT-Raman - Fourier Transform

LIBS - Laser-Induced Breakdown Spectroscopy

XPS - X-Ray Photoelectron Spectroscopy

I. INTRODUÇÃO

1. Dente

O dente constitui um dos órgãos presentes no sistema digestivo e encontra-se alojado no espaço designado de alvéolo, espaço esse que se situa no osso alveolar. Cada dente é constituído por duas porções denominadas coroa e raiz. A coroa consiste na porção que se situa acima da mucosa oral e é revestida por uma estrutura extremamente dura designada esmalte. Por sua vez, a raiz é a porção que se situa abaixo da mucosa oral e que se encontra revestida por cimento. Estas duas porções unem-se dando origem a uma zona denominada, colo do dente. A porção mais interna deste órgão é constituída pela polpa, sendo esta um tecido altamente vascularizado e inervado. Ao redor da polpa, encontra-se a dentina, tecido este que ocupa grande parte do dente. Na zona da coroa esta dentina é rodeada de esmalte, enquanto na raiz é rodeada por cimento. O ligamento periodontal consiste num tecido conjuntivo fibroso que permite ligar as fibras de colagénio que se inserem no cimento e no osso alveolar (Mescher, 2013).

1.1 Esmalte

O esmalte é o componente mais duro do corpo humano, sendo constituído maioritariamente por matéria inorgânica, e apresentando uma pequena percentagem tanto de matéria orgânica como de água. Este encontra-se em constante função durante a mastigação apresentando capacidade de criar uma camada protetora à volta de toda a coroa anatómica do dente (Bird & Robinson, 2012; Mescher, 2013; Yahyazadehfar *et al.*, 2013).

Enquanto componentes do dente, como a dentina, o cimento e a polpa têm origem mesodérmica, o esmalte apresenta origem ectodérmica (Berkovitz *et al.*, 2009).

1.1.1 Propriedades Físicas

O esmalte dentário é um tecido biológico rico em componentes minerais que lhe conferem uma elevada dureza. À medida que o esmalte vai amadurecendo, a sua componente inorgânica vai aumentando, ao contrário da componente orgânica e do volume de água que vão diminuindo (Avery, 2002). As suas propriedades variam consoante as diferentes regiões do dente. Deste modo, o esmalte superficial apresenta-se mais duro, mais denso e com menos porosidades, comparativamente ao esmalte que se encontra mais próximo da dentina (Berkovitz *et al.*, 2009). Além destas variações a nível de profundidade, o esmalte também varia consoante a posição no dente. Segundo a literatura, o esmalte na zona das cúspides é mais resistente, do que noutras superfícies do dente (Anusavice, 2003; Chun *et al.*, 2014).

Com base nas características físicas do esmalte podemos referir a dureza, o módulo de elasticidade e a resistência à fratura (Zhang *et al.*, 2014). A dureza é definida como a capacidade de um material resistir à deformação elástica, deformação plástica ou à destruição (Zhang *et al.*, 2014). Segundo alguns estudos literários, o módulo de dureza do esmalte abrange aproximadamente 3 a 6 GPa (Park *et al.*, 2008; Bajaj & Arola, 2009).

O módulo de elasticidade (módulo de Young ou módulo elástico) é definido como a rigidez relativa de determinado material, que se mede pela inclinação da porção reta da região elástica no diagrama de tensão-deformação (Anusavice, 2003). Na literatura o módulo de elasticidade do esmalte surge descrito entre os 70 e 120 GPa (Park *et al.*, 2008; Bajaj & Arola, 2009; An *et al.*, 2012).

Por último, a resistência à fratura é descrita como a quantidade de energia que um material consegue suportar antes de ocorrer a sua fratura (Anusavice, 2003). Segundo a literatura os valores para a resistência à fratura do esmalte situam-se entre os 0,6 e 1,5 MPa m^{1/2} (Park *et al.*, 2008).

1.1.2 Propriedades Químicas

A nível químico, o esmalte é formado por matéria inorgânica, matéria orgânica e por água. Segundo vários autores, o esmalte é o tecido com maior matriz extracelular mineralizada que se conhece, sendo constituído aproximadamente por 95-96% de matéria inorgânica, 1-2% de matéria orgânica e 1-2% de água (Berkovitz *et al.*, 2009; Alkhtib *et al.*, 2013; Nanci, 2013).

Apesar do principal componente orgânico serem os cristais de hidroxiapatite – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - o esmalte apresenta outros elementos na sua constituição. Elementos esses entre os quais podemos referir: flúor (F), cálcio (Ca), alumínio (Al), potássio (K), magnésio (Mg), enxofre (S), sódio (Na), zinco (Zn), silício (Si), boro (B), cobalto (Co), crómio (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), chumbo (Pb), antimônio (Sb), selênio (Se) e titânio (Ti) (Ghadimi *et al.*, 2013). Mesmo exibindo uma estrutura molecular básica, os cristais de hidroxiapatite encontram-se sujeitos a variações, podendo alguns iões serem alterados por outros (Berkovitz *et al.*, 2009). A organização e o tamanho destes mesmos cristais têm a capacidade de influenciar tanto a dureza como as propriedades óticas do esmalte (Ghadimi *et al.*, 2013). Os cristais de hidroxiapatite exibem diferentes orientações e ao agruparem-se formam prismas de esmalte que apresentam cerca de 4 a 8 μm de diâmetro (Bajaj & Arola, 2009). Ao longo dos prismas, os cristais apresentam diferentes posições. Na cabeça do prisma, os cristais encontram-se paralelos ao plano axial do prisma, enquanto na cauda os cristais exibem uma ligeira angulação de 60° em relação ao eixo axial (An *et al.*, 2012). Por sua vez os prismas de esmalte são dispostos paralelamente entre si, e perpendicularmente em relação ao esmalte superficial (Bajaj & Arola, 2009; De Menezes Oliveira *et al.*, 2010).

Os 1-2% de água, que se encontram na constituição do esmalte, estão relacionados com a porosidade do tecido. A água pode-se encontrar entre os cristais de hidroxiapatite ou a rodear a matéria orgânica. Os vários iões, como o flúor, conseguem-se difundir através da água, permitindo a sua distribuição pela estrutura dentária (Berkovitz *et al.*, 2009).

A matriz orgânica, que constitui 1-2% da constituição do esmalte, é formada por proteínas (Berkovitz *et al.*, 2009). Proteínas nas quais podemos destacar: amelogeninas, ameloblastinas, e em menor concentração lípidos e proteoglicans (Ghadimi *et al.*, 2014).

Estas proteínas encontram-se nos espaços entre os cristais de hidroxipapite que formam a matéria inorgânica (Ghadimi *et al.*, 2014).

1.1.3 Permeabilidade do Esmalte

Como já referido, o esmalte é constituído maioritariamente por matéria inorgânica e apenas uma pequena quantidade de matéria orgânica e água. Matéria orgânica esta que se encontra nos espaços intercrystalinos e numa rede de microporosidades que permite uma ligação com a superfície externa. Desta forma é possível estabelecer uma ligação dinâmica entre a cavidade oral e o espaço pulpar intersticial e fluidos dentinários. Vários fluidos, iões e moléculas de baixo peso molecular conseguem-se difundir pelo esmalte semipermeável. Com a idade existe a tendência para ocorrer acumulação de elementos no esmalte, e uma possível esclerosa dentária, resultando num dente com uma coloração mais amarela e com uma translucidez menor. Consequentemente, a solubilidade ácida, o volume dos poros, a composição de água e a permeabilidade têm tendência a diminuir. Todavia, mesmo havendo uma diminuição da permeabilidade com o aumento da idade, existe sempre uma permeabilidade básica que se mantém (Hilton *et al.*, 2013).

Ao relacionar a permeabilidade do dente com a difusão do peróxido de hidrogénio presente nos sistemas de branqueamento dentário, esta vai depender da concentração e do tempo de aplicação do mesmo sobre o esmalte (D'Arce *et al.*, 2013).

1.2 Dentina

A dentina é o componente que constitui o corpo do dente. Na porção da coroa é revestida por esmalte, enquanto na porção da raiz é revestida por cimento. Apesar de rígida, a dentina apresenta elasticidade, sendo formada por um grande número de túbulos pequenos e paralelos entre si. Esta elasticidade permite que a dentina e o esmalte se complementem entre si. A dureza do esmalte e a elasticidade da dentina permite que o dente suporte as forças mastigatórias sem fraturar. Os túbulos dentinários apresentam células denominadas de odontoblastos, que são responsáveis pela formação da dentina, e ainda um pequeno volume de fluido extracelular - fluído dentinário. A sensibilidade e a formação de dentina ao longo da vida são duas características que a diferenciam do esmalte. A capacidade de formação de dentina deriva da sua proximidade à polpa

dentária, formando uma zona denominada de pré-dentina (Berkovitz *et al.*, 2009; Chatzistavrou *et al.*, 2012).

1.2.1 Propriedades Físicas

A dentina apesar de apresentar uma dureza superior ao osso e ao cimento, comparativamente ao esmalte, a sua dureza é menor. Esta característica deve-se ao facto de apresentar uma maior percentagem de matéria orgânica, e uma arquitetura tubular. Ao contrário do esmalte, a dentina é mais flexível e tem a capacidade de absorver energia, conseguindo resistir à fratura. A permeabilidade da dentina vai depender do tamanho dos seus poros, e esta tem tendência para diminuir com a idade (Berkovitz *et al.*, 2009; Chatzistavrou *et al.*, 2012).

Segundo a literatura, as propriedades mecânicas da dentina variam consoante a sua componente mineral. Em zonas altamente mineralizadas, como a zona peritubular, o módulo de elasticidade (módulo de Young ou módulo elástico) é descrito entre os 40 e 42 GPa, enquanto em zonas pobre em minerais como na zona intertubular o módulo de elasticidade surge descrito como 17 GPa (Zhang *et al.*, 2014).

1.2.2 Propriedades Químicas

Segundo vários autores a composição química da dentina consiste em 70% de matéria inorgânica, 20% de matéria orgânica e 10% de água (Berkovitz *et al.*, 2009; Chun *et al.*, 2014). A matéria inorgânica apresenta-se na forma de cristais de hidroxiapatite, sendo estes pobres em cálcio, e ricos em carbonato. Outros elementos, como por exemplo o flúor, podem estar presentes nestes mesmos cristais, que se encontram na dentina mineralizada, entre as fibras de colagénio (Berkovitz *et al.*, 2009).

Na dentina, as fibras de colagénio mais comum são do tipo I, podendo também ser encontrado vestígios de colagénio tipo III e tipo V. Estas fibras de colagénio têm um diâmetro maior na superfície da dentina, que vai diminuindo à medida que se aproxima da polpa (Berkovitz *et al.*, 2009).

Apesar de se encontrarem em menor percentagem quando em comparação às fibras de colagénio, as proteínas são também um dos componentes da matéria orgânica da

dentina. As fosfoproteínas, proteoglicans, proteínas- Gla, proteínas ácidas e fatores de crescimentos, são algumas das que se podem encontrar (Berkovitz *et al.*, 2009).

2. Fundamentos do Branqueamento Dentário

Segundo a Internacional Organization for Standardization (ISO), o branqueamento dentário consiste na remoção de colorações intrínsecas ou adquiridas na dentição natural, recorrendo ao uso de químicos, que podem ser utilizados em combinação com meios auxiliares para a sua aplicação.

Nos dias de hoje existem várias opções que permitem melhorar a cor dos dentes, nas quais se pode mencionar pastas branqueadoras, microabrasão do esmalte, branqueamento dentário de dentes vitais e não vitais, coroas e facetas. O branqueamento dentário surge como uma alternativa terapêutica conservadora indicada para o tratamento de situações de alteração de cor a nível dentário que tem ganho popularidade ao longo dos anos e que consegue resultados estéticos bastante satisfatórios, que se tornam visíveis rapidamente (Berger *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2012; Moncada *et al.*, 2013).

A busca por um sorriso perfeito tem incentivado a população a apostar neste tipo de tratamento, uma vez que permite melhorar a coloração dos dentes, recorrendo a um tratamento mais seguro, económico, simples e menos invasivo, que produz efeitos aceitáveis num curto espaço de tempo (Berger *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2012).

O branqueamento dentário pode ser utilizado em casos pontuais, quando falamos de branqueamento de dentes não vitais, ou ser utilizado no tratamento estético amplo, quando falamos de branqueamento de dentes vitais, procurando devolver aos doentes a cor adequada, que as demandas estéticas dos doentes assim o requerem (Lorenzo & Navarro, 2008).

2.1 Cor

A cor consiste na sensação induzida pela luz com diferentes comprimentos de onda que atinge os olhos. O olho humano tem a capacidade de detetar a radiação eletromagnética dentro do espectro de luz visível que se situa entre os 400 nanómetros (violeta) e os 700 nanómetros (vermelho) (Figura 1) (Anusavice, 2003).

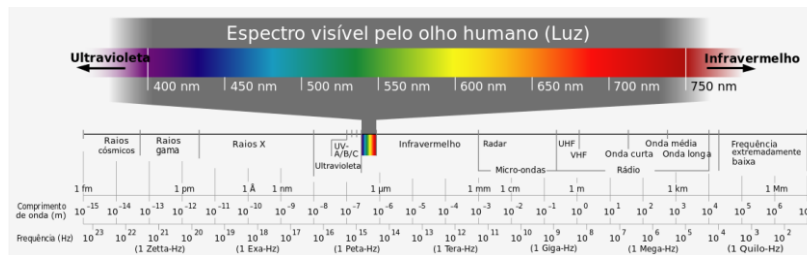


Figura 1 – Espectro Eletromagnético

(http://pt.wikipedia.org/wiki/Espectro_vis%C3%ADvel#mediaviewer/File:Espectro_eletromagnético-pt.svg)

De forma a descrever as propriedades da cor, em 1900, surgiu através Albert Munsell três parâmetros: matiz, valor e croma (Figura 2) (Shammas & Alla, 2011).

A matiz permite identificar a cor base, por exemplo, vermelho, amarelo, azul. O valor é a característica que permite diferenciar o escuro do claro, ou seja, permite identificar a cor numa escala de cinzentos. Cores que apresentem um valor baixo equivalem a cores mais escuras, enquanto um valor alto representa cores mais claras. Por último, o croma permite determinar o grau de saturação da cor, ou seja a intensidade da cor (Goodacre & Sagel, 2011).

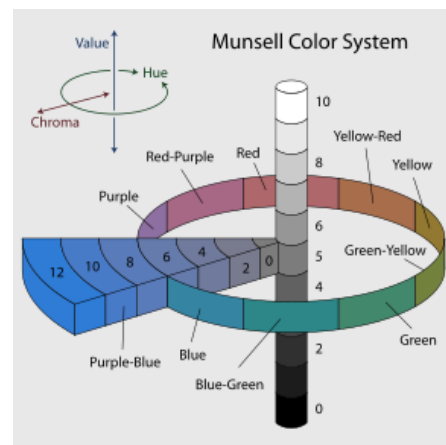


Figura 2 – Sistema de cor de Munsell

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d5/Munsell-system.svg/290px-Munsell-system.svg>)

A cor de um dente pode variar de pessoa para pessoa, quer seja dentição decídua ou dentição permanente, variar dentro da mesma dentição e até mesmo variar dentro do mesmo dente (Hilton *et al.*, 2013).

Existem várias causas pelas quais os dentes podem apresentar uma coloração indesejada. Causas essas que podem ser divididas em extrínsecas ou intrínsecas. O café, tabaco, chá, vinho, especiarias, vegetais e placa bacteriana, são alguns exemplos que podem ser apontados como responsáveis pela alteração de cor extrínseca. Nestas situações o Médico Dentista pode recorrer a aparelhos que permitam a sua remoção. As descolorações intrínsecas podem ocorrer durante a formação do dente, ou seja, durante a amelogénese e/ou dentinogénese. Com causas das colorações intrínsecas, a ingestão de determinadas substâncias como tetraciclina e flúor, e fatores genéticos são alguns dos exemplos a apontar (Suliman, 2004; Thickett & Cobourne, 2009; Carey, 2014). Estes

tipos de colorações não podem ser removidas sem haver uma invasão da estrutura dentária (Thickett & Cobourne, 2009).

O mecanismo que causa as colorações extrínsecas ocorre devido há atracção dos componentes responsáveis pela coloração à superfície dentária através de mecanismos electrostáticos, ligações de Van der Waals e pequenas interações como ligações de hidrogénio. Estas forças permitem que os materiais cromogénicos ou os seus precursores adiram ao esmalte, podendo mesmo chegar a penetrar e ligar-se à matriz orgânica (Berkovitz *et al.*, 2009; Carey, 2014).

2.2 Mecanismo de Ação

O mecanismo de ação do branqueamento dentário ocorre através de uma reacção designada de oxi-redução. O verdadeiro agente ativo na maioria dos produtos de branqueamento dentário é o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), que pode ser utilizado na sua fórmula pura ou como produto final do processo de degradação de outras substâncias de branqueamento dentário, como o peróxido de carbamida ou perborato de sódio (Souza-Gabriel *et al.*, 2011; Eimar *et al.*, 2012; Vieira *et al.*, 2012; Li & Greenwall, 2013; Carey, 2014).

O sucesso do processo de branqueamento dentário está diretamente relacionado com a capacidade que o agente ativo apresenta para se difundir pela estrutura dentária (Kwon *et al.*, 2013). Independentemente da técnica ou do material escolhido, o objetivo é sempre permitir que esse agente ativo vá de encontro aos segmentos do dente que apresentam uma coloração desagradável – cromogéneos (Hilton *et al.*, 2013).

O peróxido de hidrogénio, sendo o componente mais utilizado nos produtos de branqueamento *in-office*, ao apresentar um baixo peso molecular consegue-se difundir pela matriz orgânica tanto do esmalte como da dentina (Vieira *et al.*, 2012; Hilton *et al.*, 2013; Ubaldini *et al.*, 2013).

Já o peróxido de carbamida [$CO(NH_2)_2H_2O_2$], mais utilizado em processos de branqueamento em ambulatório, apresenta um mecanismo de ação um pouco diferente do peróxido de hidrogénio. Contudo, a etapa final de ambos é semelhante, pois envolve uma reacção do peróxido de hidrogénio com os componentes cromogénicos do dente (Vieira *et al.*, 2012; Hilton *et al.*, 2013; Ubaldini *et al.*, 2013).

A maneira como os radicais livres, libertados pela degradação do agente branqueador, reagem com os cromogéneos é bastante complexa. As manchas que se encontram no dente são cadeias longas e complexas de moléculas orgânicas, e é a conjugação da cadeia dessas moléculas que permite dar a cor indesejada ao dente. O agente branqueador, ao interagir com estas cadeias longas, consegue quebrar as ligações, tornar as cadeias mais curtas, diminuir a coloração do dente e tornar as moléculas mais difusas (Vieira *et al.*, 2012; Young *et al.*, 2012).

O peróxido de carbamida é um componente orgânico estável que se dissocia quando em contacto com a água. Desta forma, o peróxido de carbamida quando apresenta uma concentração de 10% ao entrar em contacto com o meio oral dissocia-se em 6.5% de ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) e 3.5% de peróxido de hidrogénio (H_2O_2), e tem a capacidade de penetrar no esmalte e na dentina em minutos (5 a 15 minutos). Estes dois componentes mais tarde dissociam-se em dois ingredientes cada um que serão posteriormente metabolizados. Os 6.5% de ureia resultam em amónia e dióxido de carbono, enquanto os 35% de peróxido de hidrogénio originam oxigénio e água. Esta dissociação permite que o agente ativo vá atuar a nível da descoloração, enquanto a ureia vai elevar o pH do meio local (Junqueira *et al.*, 2013; Hilton *et al.*, 2013).

Todo o mecanismo de ação no branqueamento dentário envolve uma série de reações complexas que se baseiam na formação de radicais livres de hidroxilo (HO•), perhidroxil (HO_2) e de oxigénio (O_2). As moléculas de oxigénio são instáveis e por essa razão têm a capacidade de se transformarem em moléculas mais simples (O) e em aniões de peróxido de hidrogénio (HOO^-) (Figura 3) (Dahl & Pallesen, 2003).

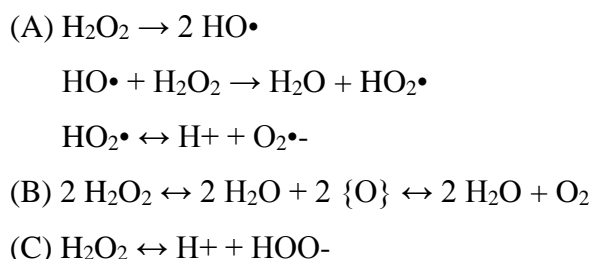


Figura 3 - Esquema do mecanismo de ação do peróxido de hidrogénio

2.3 Fatores que Influenciam o Branqueamento

2.3.1 Tipos de Branqueamento Dentário

A técnica escolhida vai condicionar o tipo de branqueamento a ser realizado.

Atualmente existem vários métodos de branqueamento dentário aos quais se pode recorrer. Ao falar de branqueamento de dentes vitais, normalmente, recorre-se a materiais à base de peróxido de hidrogénio ou peróxido de carbamida. Caso de pretenda realizar o branqueamento de dentes não vitais pode-se ainda recorrer a materiais à base de perborato de sódio (Martin-Biedma *et al.*, 2010). Dentro do branqueamento de dentes vitais as diferentes abordagens vão variar consoante os diferentes tipos de agentes branqueadores, concentrações, tempo de aplicação e formato do produto (D'Arce *et al.*, 2013).

2.3.2 Concentração e Tempo

A concentração e o tempo de aplicação do gel de branqueamento são dois fatores com a capacidade de influenciar o tratamento (Kwon *et al.*, 2013).

Estudos demonstram que quanto maior a concentração e o tempo de aplicação do material de branqueamento, maior vai ser a penetração do agente branqueador, que irá atingir o complexo pulpar, provocando efeitos adversos transitórios mais intensos, como por exemplo a sensibilidade dentária e a irritação gengival (He *et al.*, 2012; Thiesen *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014b). Caso esta situação se verifique, o tempo de aplicação e a concentração devem ser diminuídos (Moncada *et al.*, 2013).

2.3.3 Calor e Luz

Segundo alguns autores, a aceleração do mecanismo de branqueamento dentário pode ocorrer devido à excitação do agente branqueador através do recurso a fontes de luz, processo este designado por fotólise; ou pela termocatálise, que acelera o processo de libertação de radicais livres de oxigénio através do calor (Buchalla & Attin, 2007; Moncada *et al.*, 2013).

Desde modo através de fontes de luz e/ou calor consegue-se transferir energia, para que ocorra a dissociação do peróxido de hidrogénio (He *et al.*, 2012).

Quando se fala de elementos de ativação é importante destacar, que tanto a luz como o calor, não são responsáveis pelo branqueamento dentário. A sua função é apenas de acelerar a degradação do agente branqueador (Torres *et al.*, 2013).

Inicialmente recorria-se a fontes de energia que forneciam tanto calor como luz, mas atualmente foram desenvolvidos sistemas que produzem luz, mas geram menos calor. Esta evolução deve-se ao facto de que o calor derivado das fontes luminosas iriam interferir no processo de branqueamento dentário ao aumentar a temperatura e aumentar a difusão do agente branqueador pelo esmalte e dentina, atingindo o complexo pulpar e levando ao aumento da temperatura do dente, ao aparecimento de sensibilidade dentária e ao risco de danos irreversíveis à polpa (Alf *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2010; He *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2013).

Como exemplos de fontes luminosas podemos referir: lâmpadas de halogéneo, tungsténio e quartzo, luzes ultravioleta, lasers, luzes de arco plasma e luzes LED (Light Emitting Diode) (Briso *et al.*, 2010; Dietschi *et al.*, 2010; Tanaka *et al.*, 2010).

O uso de luz tem vindo a gerar alguma controvérsia na literatura científica, questionando os resultados clínicos (Bernardon *et al.*, 2010; Torres *et al.*, 2010). Atualmente existem estudos que defendem que as diferentes fontes de luz não interferem no resultado final, ou seja, os resultados finais do processo de branqueamento dentário mostram-se semelhantes recorrendo ou não ao uso de luz (Alf *et al.*, 2010; Briso *et al.*, 2010; He *et al.*, 2012).

2.3.4 pH

Vários estudos demonstram que o pH do gel de branqueamento pode influenciar o processo de branqueamento dentário, apontando este fator como uma das principais causas das alterações no esmalte e dentina após o branqueamento (Abouassi *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2011; Sa *et al.*, 2013). Como é descrito na literatura, um pH abaixo de 5.5 estimula a desmineralização dentária, logo materiais com um pH baixo podem causar alterações a nível da superfície dentária devido à sua natureza ácida (Hilton *et al.*, 2013).

Alguns dos produtos de branqueamento dentário *in-office* apresentam uma elevada concentração de peróxido de hidrogénio com um pH baixo, que apesar de os mecanismo

ainda não estarem muito bem definidos, este pH baixo pode estar relacionado com os efeitos adversos do branqueamento dentário, como por exemplo, na redução da microdureza do esmalte (Borges *et al.*, 2010; Sa *et al.*, 2013).

Relativamente aos produtos de branqueamento que contêm peróxido de carbamida, a maioria que é aprovada pela American Dental Association (ADA), têm um pH aproximadamente de 7. O peróxido de carbamida apresenta ainda a vantagem de se dissociar em ureia e peróxido de hidrogénio. Ureia esta, responsável por manter o pH neutro da cavidade oral (Hilton *et al.*, 2013).

Caso os agentes branqueadores apresentem um pH inferior ao ideal, pode ocorrer uma alteração da composição mineral do esmalte, e aumento da porosidade (Demarco *et al.*, 2011; Hilton *et al.*, 2013).

2.4 Indicações e Contraindicações

O branqueamento dentário tem vindo a tornar-se um dos tratamentos mais procurados na atualidade. Conhecer as diferentes indicações e contra-indicações torna-se uma mais valia, para elaborar um plano de tratamento seguro e adequado a cada caso.

Especificando as indicações consoante a vitalidade dos dentes, pode-se apontar como indicações para dentes vitais: descolorações do esmalte e da dentina superficial, envelhecimento dentário, administração de fármacos como tetraciclina, manchas de fluorose, pigmentações devido ao tabaco, chá, café ou vinho. Como indicações de dentes não vitais temos: traumatismos, iatrogenia – descoloração devido ao uso de materiais inadequados utilizados durante o tratamento endodôntico e/ou na posterior reconstrução dos mesmos-, necrose pulpar e calcificação pulpar (Sulieman, 2004; Lorenzo & Navarro, 2008).

Relativamente às contra-indicações gerais do branqueamento dentário temos: sinais de reabsorção radicular, defeitos da formação do esmalte, fissuras da porção coronária do dente, cáries dentárias, doença periodontal, doentes com má higiene oral, doentes com expectativas demasiado altas, grávidas, existência de coroas ou restaurações extensas em zonas dentárias estéticas (Sulieman, 2004; Lorenzo & Navarro, 2008).

Especificando as contra-indicações do branqueamento consoante a vitalidade dos dentes, podemos apontar como contra-indicações para dentes vitais: sensibilidade

dentária, dentina exposta, superfície radicular exposta. Como contraindicações de dentes não vitais temos: lesões apicais e má técnica de endodontia (Lorenzo & Navarro, 2008).

2.5 Efeitos Secundários

2.5.1 Sensibilidade Dentária

A sensibilidade é um dos efeitos secundários mais descritos associados ao branqueamento dentário quando aplicado a dentes vitais (Moncada *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014a). Segundo vários autores, esta consequência depende da concentração do agente branqueador, assim como do tempo e frequência de aplicação do mesmo (He *et al.*, 2012; Moncada *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014a).

A resposta pulpar ao branqueamento dentário pode variar de pessoa para pessoa e até mesmo de dente para dente. Os mecanismos relacionados com o aparecimento da sensibilidade dentária após o branqueamento dentário não são fáceis de perceber. Porém, acredita-se que esta resposta pode ser uma manifestação da polpa ao agente branqueador e aos radicais livres de oxigénio que são libertados durante o processo de branqueamento (Li & Greenwall, 2013).

O peróxido de hidrogénio é o agente ativo mais utilizado nos procedimentos de branqueamento *in-office*, e nestes casos recorre usualmente a elevadas concentrações. Ao ser uma molécula pequena e de baixo peso molecular, o peróxido de hidrogénio tem a capacidade de se difundir facilmente pelos espaços intersticiais, chegando aos túbulos dentinários, provocando conseqüentemente a sensibilidade dentária. Ainda que a sensibilidade se possa prolongar alguns dias após o tratamento, normalmente não causa qualquer tipo de agressão permanente à polpa dentária, apresentando desta maneira um carácter reversível (Hilton *et al.*, 2013; Moncada *et al.*, 2013; Carey, 2014).

Existem no mercado algumas opções terapêuticas para tentar minimizar os efeitos da sensibilidade dentária após branqueamento dentário, entre os quais, podemos mencionar a aplicação de produtos à base de flúor, nitrato de potássio, citrato de potássio, fosfato de cálcio amorfo (ACP), e mais recentemente produtos à base de fosfato de cálcio fosfopeptideo amorfo (CPP-ACP). É possível ainda recorrer ao tratamento com anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs) e dentífricos dessensibilizantes (Alkhtib *et al.*, 2013; Thiesen *et al.*, 2013).

Para atenuar a sensibilidade pós-tratamento, as opções descritas anteriormente, atuam através da redução da excitação das fibras nervosas que se encontram presentes no interior da câmara pulpar, e/ou através do selamento dos túbulos dentinários, resultando na diminuição da permeabilidade da dentina. Os sais de potássio que se difundem através do esmalte e da dentina atingindo a polpa dentária, têm a capacidade de promover a redução da excitação das fibras nervosas, resultando na diminuição da sensação de dor (Thiesen *et al.*, 2013).

Inicialmente, alguns produtos como dessensibilizantes de uso profissional, dentífricos, ou até mesmo produtos de branqueamento dentário foram lançados para o mercado incluindo na sua composição flúor e nitrato de potássio, que têm a capacidade de atenuar os efeitos da sensibilidade. De maneira a reduzir o fluxo de fluidos dentro dos túbulos dentinários, e diminuindo conseqüentemente a sensibilidade, foram lançados para o mercado, mais recentemente, produtos que contêm na sua composição carbonato de cálcio e arginina (Thiesen *et al.*, 2013).

2.5.2. Efeitos no Esmalte e Dentina

Até à data existem vários estudos sobre possíveis efeitos dos géis de branqueamento no esmalte e na dentina. Muitos desses estudos são bastante controversos, pois enquanto uns indicam que existem alterações provocadas pelo tratamento branqueador no esmalte e na dentina, outros, pelo contrário, alegam que os efeitos provocados não são clinicamente relevantes nem constituem uma ameaça, visto que, existem mecanismos de remineralização na cavidade oral que permitem contrabalançar as possíveis conseqüências do branqueamento dentário ao nível da estrutura dentária (Borges *et al.*, 2009; Borges *et al.*, 2010; Li & Greenwall, 2013; Sa *et al.*, 2013).

Alguns efeitos relatados em estudos de investigação apontam para uma alteração na microdureza e no módulo de elasticidade da dentina, que podem estar relacionados com a redução de componentes inorgânicos do esmalte e de componentes orgânicos da dentina (Borges *et al.*, 2009; Vieira *et al.*, 2012; Junqueira *et al.*, 2013). Alguns estudos reportam ainda alterações na morfologia do esmalte, aumento rugosidade da superfície, alterações a nível da composição química, diminuição da resistência à fratura e abrasão, principalmente se a concentração do agente branqueador for elevada, e o tempo de uso

for prolongado (Berger *et al.*, 2012; De Arruda *et al.*, 2012; Junqueira *et al.*, 2013; Sa *et al.*, 2013).

Para ultrapassar alguns dos efeitos no esmalte e na dentina acima descritos, pode-se recorrer ao uso de flúor após o branqueamento dentário, uma vez que, o seu uso encontra-se relacionado com o aumento da microdureza do esmalte e com a prevenção da perda de minerais do mesmo (Borges *et al.*, 2010). Todavia, apesar de ainda pouco se saber sobre o seu efeito, alguns estudos reportam que uso de produtos de branqueamento que contêm na sua composição flúor e cálcio não favorecem o aumento da microdureza do esmalte (Borges *et al.*, 2010; Berger *et al.*, 2012).

2.5.3. Irritação Gengival e Mucosa

A irritação gengival é outro dos efeitos adversos possíveis que se pode prolongar durante 2 a 3 dias, após o tratamento. Quando associado ao branqueamento em ambulatório, a irritação gengival tem como causa principal uma goteira mal adaptada. Para solucionar este problema deve-se recorrer à correção e ajuste da mesma. Quando associado ao branqueamento *in-office*, normalmente, a causa da irritação gengival deve-se a uma falha na proteção dos tecidos moles. Para que não ocorra este tipo de efeito adverso deve-se garantir o isolamento da gengiva com recurso a produtos indicados para tal, e só depois deve ser aplicado o gel de branqueamento (Li & Greenwall, 2013).

Em casos extremos, com o intuito de ajudar no processo de recuperação, o uso de anestesia tópica, a limitação dos movimentos mandibulares, uma boa higiene oral, e ainda o uso de Vitamina E diretamente na superfície dos tecidos, surgem como opções para atenuar a irritação gengival (Li & Greenwall, 2013).

Os produtos de branqueamento dentário que recorrem a maiores concentrações de peróxido de hidrogénio podem facilmente provocar lesões a nível da mucosa oral, sendo por essa razão aconselhados a serem usados sob supervisão do Médico Dentista e com recurso a uma proteção rigorosa dos tecidos moles (Markowitz, 2010; Llambes *et al.*, 2011; Emoto *et al.*, 2012; Hilton *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014b).

2.5.4. Irritação do Trato Gastrointestinal

A deglutição do material de branqueamento pode provocar dores no trato gastrointestinal, porém a ingestão de géis de branqueamento que contêm peróxido de hidrogénio não apresenta consequências severas. Para evitar este tipo de danos, caso se trate de um branqueamento em ambulatório, as goteiras devem estar bem adaptadas, e a quantidade de gel de branqueamento aplicado não deve ser em excesso, para evitar o seu extravasamento. Caso seja realizado branqueamento *in-office*, deve haver um bom isolamento dos tecidos para que não haja escorrimento do gel de branqueamento, que promova a sua deglutição (Goldberg *et al.*, 2010).

3. Sistemas de Branqueamento

Os procedimentos terapêuticos referentes ao branqueamento dentário podem ser classificados em dois grandes grupos, segundo a vitalidade do dente, sendo eles: branqueamento de dentes vitais e branqueamento de dentes não vitais. O branqueamento de dentes vitais corresponde ao branqueamento externo, o qual se realiza sobre os mesmos; já o branqueamento de dentes não vitais realiza-se em dentes que foram sujeitos a tratamento endodôntico, podendo ser realizado de forma externa, interna ou numa combinação de ambos (Lorenzo & Navarro, 2008).

3.1. Branqueamento de Dentes Não Vitais

Os dentes submetidos a tratamento endodôntico encontram-se mais propícios a sofrerem uma alteração da cor. Como causas encontradas pode-se mencionar produtos sanguíneos provenientes de um trauma, a própria terapêutica endodôntica, ou tecido necrótico deixado de forma incorreta dentro da câmara pulpar (Markowitz, 2010; Hilton *et al.*, 2013).

No caso de dentes endodonciados, para além do peróxido de hidrogénio e peróxido de carbamida que são usados frequentemente no branqueamento de dentes vitais, o perborato de sódio é outro material ao qual se pode recorrer para realizar o branqueamento de dentes não vitais (Martin-Biedma *et al.*, 2010). O perborato de sódio ($\text{NaBO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$)

pode encontrar-se presente na forma de mono, tri, ou tetrahidrato. Ao adicionar água a este material, o peróxido de hidrogénio presente na composição irá ser libertado (Zimmerli *et al.*, 2010)

3.1.1. Branqueamento Interno

Para um dente não vital que foi submetido a tratamento endodôntico e apresenta uma coloração desagradável, o branqueamento interno surge como uma boa solução. O Médico Dentista deve criar acesso à câmara pulpar de modo a atingir as extensões laterais e incisais da mesma. Após o acesso, a câmara pulpar deve ser devidamente limpa e a gutta percha deve ser removida 2mm abaixo da junção amelo-cimentária, de modo a criar espaço para colocar ionómero de vidro modificado por resina. Desta maneira, consegue-se obter as condições apropriadas para colocar o gel de branqueamento (Hilton *et al.*, 2013).

Esta condição descrita é de extrema importância, pois o branqueamento interno de dentes não vitais surge descrito na literatura como uma das principais razões para a reabsorção radicular. Para evitar este tipo de danos, é criada a barreira com recurso a ionómero de vidro modificado por resina para impedir o produto de branqueamento de atingir a porção apical da raiz e a porção lateral dos tecidos periodontais (Martin-Biedma *et al.*, 2010; Zimmerli *et al.*, 2010)

Existem duas técnicas às quais se pode recorrer, para realizar o branqueamento interno de dentes não vitais: técnica walking-bleach e a técnica termocatalítica.

3.1.1.1. Técnica Walking-Bleach

A técnica walking-bleach foi descrita pela primeira vez em 1961 por Spasser (Zimmerli *et al.*, 2010). Esta técnica permite o branqueamento interno de dentes não vitais recorrendo ao uso de agentes como peróxido de hidrogénio, peróxido de carbamida, ou perborato de sódio. Estes produtos são colocados no interior da câmara pulpar, após ter sido feito o acesso e o selamento da mesma. Desta forma os agentes ficam selados na cavidade durante alguns dias permitindo a ativação da solução. (Hilton *et al.*, 2013).

O doente dirige-se ao consultório semanalmente com o objetivo de mudar a solução, podendo ir uma a quatro vezes, até que a cor final desejada seja alcançada (Hilton *et al.*, 2013).

Caso se utilize como agente branqueador o perborato de sódio, segundo alguns estudos, este pode ser misturado com água destilada, peróxido de hidrogénio ou peróxido de carbamida até ficar com um aspeto pastoso. Posteriormente, a mistura é colocada dentro da cavidade pulpar ficando a atuar até se alcançar a cor desejada (Zimmerli *et al.*, 2010).

3.1.1.2. Técnica Termocatalítica

A técnica termocatalítica promove a interação entre o agente branqueador aplicado no interior da câmara pulpar e o calor aplicado externamente. Segundo alguns estudos, devido ao aumento da temperatura, os radicais de oxigénio são libertados mais rapidamente. A aplicação do agente branqueador é repetida até a cor desejada ser atingida (Plotino *et al.*, 2008).

3.1.2. Branqueamento Externo

O branqueamento externo em dentes não vitais sugere o recurso a uma goteira individual e a utilização de um gel de branqueamento à base de peróxido de hidrogénio ou peróxido de carbamida (Plotino *et al.*, 2008; Hilton *et al.*, 2013).

Neste tipo de procedimento é confeccionada uma goteira individual, que se estenda por toda a arcada, mas que tenha como principal objetivo cobrir o dente que se pretenda branquear. Com o propósito de evitar o extravasamento do material branqueador para os dentes adjacentes, é recomendado a remoção dos locais da goteira que correspondam aos mesmos (Hilton *et al.*, 2013).

3.1.3. Técnica Combinada

A técnica combinada, tal como o nome indica, envolve a combinação da técnica de branqueamento interno com a técnica de branqueamento externo, em dentes não vitais. Isto significa que o dente irá sofrer a aplicação do gel de branqueamento no interior da câmara pulpar, da mesma forma que irá ser aplicado o produto branqueador externamente com recurso a uma goteira individual. Para tal, a câmara pulpar, à qual foi feito acesso e selamento adequado, é deixada em aberto, durante o tempo em que decorre o tratamento, com a finalidade do doente colocar o agente branqueador no interior, e que ao mesmo tempo consiga colocar o mesmo gel no local correspondente na goteira (Zimmerli *et al.*, 2010; Hilton *et al.*, 2013). Nestes casos recorre-se, normalmente, a produtos de branqueamento com baixas concentrações de peróxido de carbamida. É recomendado um controlo de 2 ou 3 em 3 dias para controlo da cor (Zimmerli *et al.*, 2010). Esta técnica é descrita na literatura como sendo bastante eficaz e bastante satisfatória visto que reduz o tempo de tratamento em 50% (Hilton *et al.*, 2013).

3.2. Branqueamento de Dentes Vitais

Dentro do branqueamento em dentes vitais podemos evidenciar diferentes técnicas. Podemos optar técnicas que se realizam exclusivamente no consultório, as quais são realizadas pelo Médico Dentista e designadas em consultório ou *in-office*; e as que se realizam em casa pelo doente, sendo controladas pelo Médico Dentista, designadas em ambulatório; ou ainda se pode recorrer a uma combinação de ambas (Lorenzo & Navarro, 2008).

3.2.1. Branqueamento em Ambulatório

O método de branqueamento em ambulatório, recorre ao uso de goteiras individuais. Apesar de ser executado em casa pelo doente, é supervisionado pelo Médico Dentista em consultas de rotina (Haywood & Heymann, 1989).

Este método de branqueamento dentário baseia-se no uso de baixas concentrações do agente branqueador. Normalmente recorre-se ao uso de peróxido de carbamida (10%-

22%) ou peróxido de hidrogénio (3% - 8%), ambos em baixas concentrações. O gel é aplicado numa goteira confeccionada exclusivamente para o doente, e deverá ser usada 2 a 4 horas por dia, durante 2 a 3 semanas, conforme os resultados que o doente deseje (Lima *et al.*, 2012).

Apesar do branqueamento em ambulatório recorrer a baixas concentrações de peróxido de hidrogénio que reduz a sensibilidade pós-tratamento, ser de fácil aplicação, apresentar um custo económico mais reduzido e requerer menor tempo no consultório médico, também apresenta as suas desvantagens. Desvantagens essas, se podem mencionar o menor controlo por parte do Médico Dentista, o uso de goteiras individuais às quais muitos pacientes não se conseguem adaptar, a possível mal confeção da goteira que pode levar a extravasamento do gel, provocando lesões nos tecidos gengivais ou até mesmo a sua ingestão, e o maior tempo necessário para se obterem resultados (Demarco *et al.*, 2011; Reis *et al.*, 2011; Mondelli *et al.*, 2012; Bonafé *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014b).

Caso as goteiras individuais não sejam utilizadas corretamente, ou estejam mal confeccionadas, pode ocorrer a irritação gengival (Goldberg *et al.*, 2010; Demarco *et al.*, 2011).

3.2.2. Branqueamento *In-office*

O branqueamento realizado em consultório, descrito como branqueamento *in-office*, recorre geralmente a um agente branqueador com elevadas concentrações, podendo este apresentar-se na forma de o peróxido de hidrogénio (35 – 38%) ou peróxido de carbamida (35 – 37%), e sugere que o doente se desloque ao consultório e permaneça durante 30 a 45 minutos na cadeira (Lima *et al.*, 2012; Hilton *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014b).

Este tipo de branqueamento surgiu após o branqueamento dentário em ambulatório, proposto em 1989 por Haywood e Heymann, como uma opção que permite um maior controlo por parte do Médico Dentista, uma maior estabilidade de cor, uma redução do tempo de tratamento e que dispensa o recurso a goteiras individuais (Mondelli *et al.*, 2012; D'Arce *et al.*, 2013). Através deste método o doente acaba por ter menor participação durante todo o processo, e os resultados são alcançados mais rapidamente (Borges *et al.*, 2010).

Devido às elevadas concentrações que são utilizadas, os tecidos moles devem ser devidamente protegidos. Este tratamento é indicado quando se pretendem resultados mais rápidos ou quando os próprios doentes têm dificuldade em seguir o protocolo do branqueamento em ambulatório. Contudo várias questões devem ser postas em causa, e alertas devem ser feitos antes de se partir para um tratamento de branqueamento dentário (Hilton *et al.*, 2013).

3.2.3. Branqueamento Combinado

O branqueamento combinado consiste na associação entre as duas técnicas descritas anteriormente. Esta técnica permite obter uma maior estabilidade da cor. O tratamento é iniciado com uma sessão em consultório, seguido depois da aplicação do gel branqueador através da técnica em ambulatório. O recurso a esta técnica permite obter melhores resultados, pois o tempo de tratamento é menor, existe menor irritação gengival e menor sensibilidade dentária (Alf *et al.*, 2010).

3.2.4. Branqueamento com Produtos de Venda Livre

Atualmente a venda de produtos comerciais para branqueamento dentário tem vindo a aumentar. Produtos estes que podem ser encontrados em farmácias, supermercados, na Internet, e que são de venda livre, ou seja, qualquer pessoa pode adquiri-los e utiliza-los de forma independente. Entre estes podemos referir géis, dentífricos, tiras de branqueamento, pastilhas e vernizes. Em comum, podemos afirmar que estes produtos apresentam baixas concentrações de peróxido de hidrogénio ou peróxido de carbamida. Apesar do fácil acesso e baixo custo, estes produtos podem apresentar efeitos adversos, como erosão e alterações na estrutura dentária, e resultados não tão satisfatórios comparando com os tratamentos dentários supervisionados por um Médico Dentista. Este tipo de produtos não apresentam estudos científicos suficientes para garantir a sua eficácia (Demarco *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2012).

4. Análise Instrumental

4.1. Fluorescência de Raio-X por Dispersão de Comprimento de Onda (WDXRF)

Fluorescência de Raio-x por dispersão de comprimento de onda (WDXRF) permite obter uma análise qualitativa e quantitativa dos elementos presentes numa determinada amostra, ou seja, permite determinar a composição elementar da amostra, e a sua respetiva concentração (Disponível em: http://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/18799/18799_6.PDF)

Este método baseia-se numa fonte de radiação que é emitida provocando a excitação dos átomos que se encontram na amostra que tencionamos analisar. Quando um átomo, no seu estado fundamental, sofre a ação de uma fonte externa de energia, como no caso de raio-x, este absorve a energia, ficando no estado excitado. Como o átomo tende a encontrar o seu estado fundamental, para passar do estado excitado para o seu estado inicial, este vai emitir energia. Esta energia que é emitida é característica de determinado elemento químico, permitindo que durante a emissão sejam determinados quais os elementos presentes, assim como a sua respetiva concentração. Situando os raio-x no espectro eletromagnético, tal como é feito com a luz visível, este situam-se a um comprimento de onda entre os 0.01 a 10 nanómetros. Para realizar este tipo de análise não é necessário submeter as amostras a uma preparação prévia, e após a análise a amostra encontra-se intata, ou seja, é um método não destrutivo. (Disponível em: http://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/18799/18799_6.PDF).

O WDXRF pode ser utilizado para medir todos os elementos da tabela periódica, podendo a amostra encontrar-se num estado líquido ou sólido (Disponível em: <http://www.absotecthailand.com/EDXRF%20VS%20WDXRF.pdf>)

O instrumento utilizado para realizar este estudo foi o Raio-X de Fluorescência por dispersão de comprimento de onda (WDRXF) S4 Pioneer – Bruker. Este aparelho é constituído por um tubo responsável por emitir a radiação inicial, que contém um filtro para garantir que todos os elementos presentes na amostra são excitados; por uma máscara que permite eliminar os sinais que não são desejados; por um colimador que melhora a resolução; um cristal; e finalmente por dois recetores (proporcional e cintilador), um que deteta os elementos mais leves, e outro que deteta os elementos mais pesados (Figura 4).

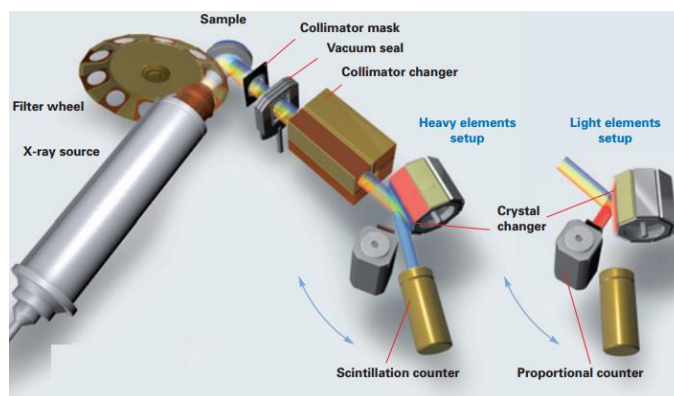


Figura 4 – Sistema Pioneer S4

(http://users.uoi.gr/imatsoul/S4-Explorer/005_01954_BR_S4_Pioneer_E_Internet.pdf)

4.2. Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM)

O Microscópio Eletrónico de Varrimento, usualmente designado por SEM (Scanning Electron Microscopy) - abreviatura em inglês - funciona à base de um feixe de eletrões que é emitido e que colide sobre a superfície da amostra em análise, fazendo a sua varredura e libertando eletrões secundários. São estes eletrões secundários que permitem gerar uma imagem visível no monitor. Antes de serem observados ao microscópio, a superfície da amostra tem que ser preparada. A preparação dos espécimes para análise consiste em duas etapas: a desidratação e a metalização. A fase de metalização consiste em cobrir a amostra a observar com uma camada fina de metal, que normalmente é o ouro. (Disponível em: <http://materiais.dbio.uevora.pt/jaraujo/biocel/metecnicas.htm>)

O SEM é uma das técnicas mais utilizadas na atualidade para estudos *in vitro* que tenham como objetivo avaliar a superfície dos tecidos duros do dente. As imagens que são obtidas através do SEM conseguem obter uma grande profundidade de campo (Field *et al.*, 2010).

Grande parte das investigações recorrem ao SEM com o objetivo de avaliar as alterações que ocorrem ao nível da morfologia do esmalte como a presença de erosão e a porosidade, quando este é sujeito ao tratamento com recurso a géis de branqueamento. Este método de análise necessita de determinados parâmetros para ser utilizado, como por exemplo: baixa pressão ambiental. Uma das desvantagens deste tipo de análise é que não permite obter uma imagem tridimensional da amostra a ser estudada (Sasaki *et al.*, 2009; Pedreira de Freitas *et al.*, 2010).

II. OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar alterações na composição e na morfologia do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento *in-office*.

Hipóteses de estudo

- Hipótese nula 1: Não existe alteração na composição do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento *in-office*;
- Hipótese nula 2: Não existe alteração na morfologia do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento *in-office*.
- Hipótese alternativa 1: Existe alteração na composição do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento *in-office*;
- Hipótese alternativa 2: Existe alteração na morfologia do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento *in-office*.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

Protocolo Experimental

Esta investigação foi realizada com objetivo de determinar alterações na composição e morfologia do esmalte dentário quando sujeito à ação de dois géis de branqueamento *in-office*, com diferentes concentrações. Para tal, foram selecionados 16 molares sem cáries, recentemente extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos, e cedidos pelo banco de dentes do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, tendo sido aprovado pela Comissão de Ética.

Como géis de branqueamento foram utilizados: o gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) com 35% peróxido de hidrogénio, e o gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) com 6% peróxido de hidrogénio (figura 5). As características de ambos os géis encontram-se descritas na tabela 1.



Figura 5 – a) Gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) com 35% peróxido de hidrogénio; **b)** Gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) com 6% peróxido de hidrogénio

	<i>Perfect Bleach Office+, VOCO</i>	<i>Pola Office+, SDI</i>
Agente ativo	Peróxido de Hidrogénio	Peróxido de Hidrogénio
Concentração	35%	6%
Fornecedor	VOCO GmbH Anton-Flettner-Str. 1-3 D-27472 Cuxhaven, Germany	SDI Dental Limited Block 8, St Johns Court Swords Road, Santry Dublin 9, Ireland
Ingredientes	Solução de peróxido de hidrogénio e nitrato de potássio	Água, Peróxido de Hidrogénio, PVP, Hidróxido de Sódio, Nitrato de Potássio, Ultramarinas
pH	Neutro (7.3)	Neutro

Tabela 1 – Características dos géis de branqueamento utilizados

Para proceder à aplicação dos géis de branqueamento e posterior análise de resultados foram criados três grupos experimentais: dois grupos de estudo, A e B, (n=15) e um grupo controlo (n=2), tal como representado na tabela 2.

<i>Grupo</i>	<i>Gel de Branqueamento Aplicado</i>	<i>Número de amostras</i>
<i>Grupo A</i>	Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) 35 % Peróxido de hidrogénio	n= 15
<i>Grupo B</i>	Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) 6% Peróxido de hidrogénio	n= 15
<i>Grupo controlo</i>	Sem aplicação de gel	n=2

Tabela 2 – Distribuição das amostras

Antes de dar início à aplicação dos respetivos géis de branqueamento, os espécimes dos grupos A e B foram sujeitos a uma análise prévia da sua composição elementar, com auxílio da Microscopia de Fluorescência de Raio-X por Dispersão de Comprimento de Onda (WDRXF). Após concluída a análise, deu-se início à aplicação dos géis de branqueamento nas respetivas amostras. Aplicação essa que foi feita de forma organizada: em cada grupo, os espécimes 1 a 5 foram submetidos a uma única aplicação do gel que lhe era correspondente, os espécimes 6 a 10 foram submetidos a duas aplicações e, finalmente, os espécimes 11 a 15 foram submetidos a três aplicações do respetivo gel. Estas aplicações foram feitas com um dia de intervalo, ficando os espécimes armazenados em água desionizada entre cada aplicação, para não provocar interferências nos resultados finais.

Concluída a aplicação dos géis de branqueamento, as amostras do grupo A e B foram sujeitas a uma leitura final da sua composição, para verificar se apresentavam alterações na composição elementar do esmalte dentário. Por último foram selecionadas seis amostras de cada grupo de estudo, para serem observadas no Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM). Seleção esta que consistiu em utilizar duas amostras submetidas a uma aplicação do gel, duas submetidas a duas aplicações e por fim as restantes duas submetidas a três aplicações.

Ficando com um total de doze amostras, juntaram-se a estas, as duas amostras de controlo, para posterior preparação com o intuito de serem visualizadas pelo SEM.

As catorze amostras foram sujeitas à visualização da morfologia através do SEM para detetar alterações microscópicas na superfície do esmalte.

Preparação das amostras

Há medida que os dentes eram extraídos, foram armazenados em água desionizada a 4°C. Posteriormente procedeu-se à remoção do tecido orgânico com recurso a uma cureta – raspagem manual (figura 6).



Figura 6 – Remoção do tecido orgânico com recurso a curetas

Após remoção do tecido orgânico, os dentes foram colocados em cloramida T a 0.5%, não excedendo o período de uma semana, segundo a Norma ISO 11405 (International Organization for Standardization). Após o período de armazenamento em Cloramida T, os dentes foram novamente armazenados em água desionizada a 4°C. Até se iniciar o processo de aplicação do gel de branqueamento dentário, a água desionizada foi renovada semanalmente.

Para confecionar as 32 amostras necessárias, os 16 dentes foram removidos da água desionizada e foram fixados a um bloco com recurso a cera amarela colante e a uma lamparina, com o objetivo de preparar o dente para o corte (Figura 7)

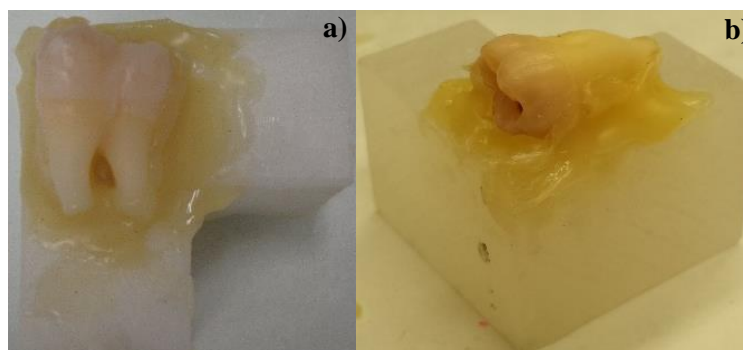


Figura 7 – a) e b) Fixação dos dentes aos blocos com cera amarela colante para posterior corte

Foi feito um corte no sentido mesio-distal nos molares inferiores, e no sentido vestibulo-palatino nos molares superiores, para criar dois grupos de estudo (A e B) e um grupo controlo, onde: grupo A (n=15), grupo B (n=15) e grupo de controlo (n=2). Para realizar o corte recorreu-se ao micrótomoto de tecidos duros Struers Accutom-50 (Struers, Ballerup, Dinamarca) (Figura 8).

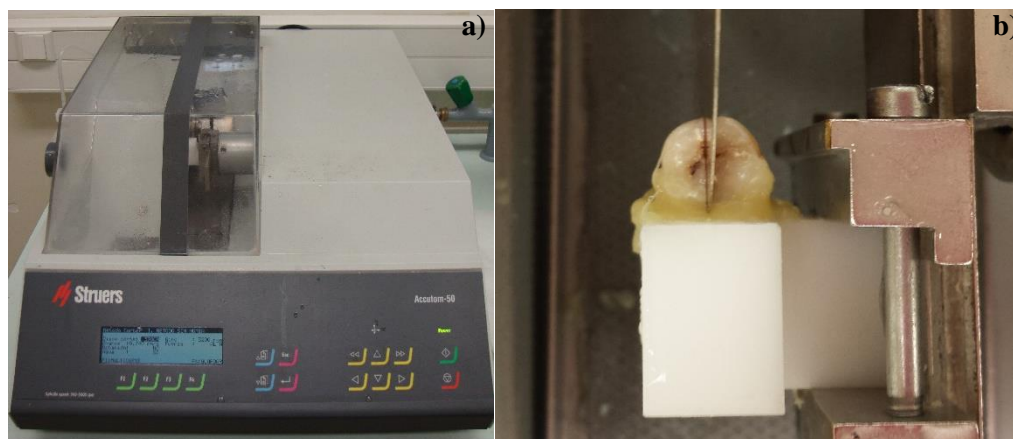


Figura 8 – a) Micrótomoto de tecidos duros Struers Accutom-50; b) Corte do dente

Após o corte, seguiu-se a limpeza do interior da câmara pulpar, com auxílio de curetas manuais (figura 9).



Figura 9 – Interior da câmara pulpar

Após todos os espécimes estarem devidamente limpos, seguiu-se a sua inclusão em resina epóxi com o objetivo de selar a câmara pulpar. Foram utilizados 15 bases para confeccionar a inclusão em resina epóxi. Como eram 32 amostras, a inclusão do dente em resina epóxi foi realizada em 3 sessões. As características da resina epóxi encontram-se descritas na tabela 3.

EpoFix

<i>Tempo de presa</i>	Aproximadamente 12 horas
<i>Aplicação</i>	Ser utilizada no vácuo – baixa viscosidade <ul style="list-style-type: none"> • Pode ser utilizada em todos os tipos de espécimes; • Temperatura baixa para tomar presa; • Excelente adesão; • Penetração superior de poro e cracks.
<i>Componentes</i>	Dois líquidos (Resina e Endurecedor)
<i>Volume de rácio para mistura</i>	Resina: 15 Endurecedor: 2
<i>Tempo de mistura</i>	2 Minutos
<i>Tempo de vida</i>	30 Minutos
<i>Solubilidade</i>	Resina: álcool e acetona Endurecedor: álcool, acetona e água

Tabela 3 – Características da Resina Époxi, EpoFix Strues

Para confecção da base em resina epóxi foi utilizada uma porção de 15:2, de resina e endurecedor, respetivamente.

A resina epóxi foi colocada nos moldes, e o dente foi colado posteriormente, de forma à câmara pulpar não ficar exposta (figura 10).

**Figura 10** – Confeção da inclusão das amostras em resina époxi

Posteriormente, as amostras foram colocadas em vácuo, para ajudar na polimerização da resina epóxi.

Após 24 horas, as amostras foram removidas dos respectivos moldes e separadas aleatoriamente em 15 amostras para o grupo A, 15 amostras para o grupo B e 2 amostras para o grupo controlo (figura 11). Foram identificadas com respetivo número.

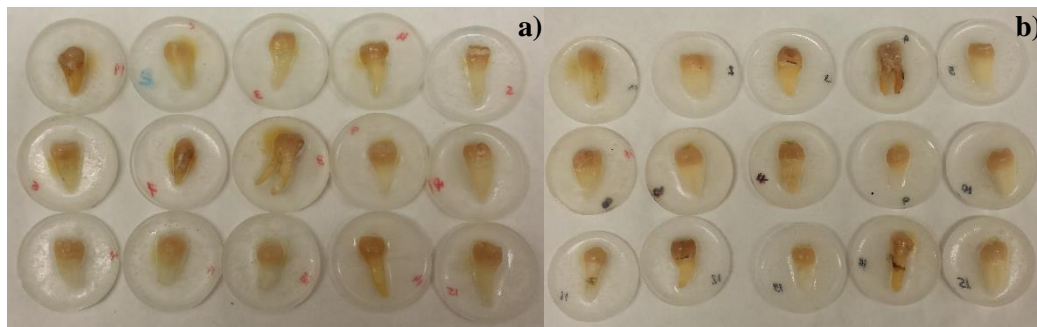


Figura 11 – a) espécimes grupo A; b) espécimes grupo B

As amostras foram colocadas novamente em água desionizada a 4°C até posterior análise.

Análise Inicial com Microscopia de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda (WDRXF)

Para se proceder à análise inicial da composição através do método de Microscopia de Fluorescência de Raio-X de por Dispersão de Comprimento de Onda (WDRXF), as amostras foram retiradas da água desionizada e secas com compressas esterilizadas.

As amostras foram colocadas individualmente em cada porta-amostras (figura 12-a) com recurso a uma pinça esterilizada, para serem analisadas através do Microscópio de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda S4 Pioneer - Bruker (Figura 12-b).

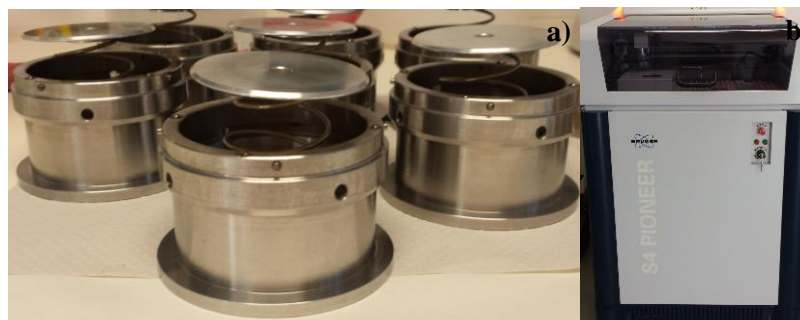


Figura 12 – a) Porta-amostras; b) Microscópio de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda (WDRXF)

Após análise da composição elementar inicial, os resultados de cada espécime foram registados individualmente. Os espécimes foram armazenados novamente em água desionizada até posterior aplicação do respetivo gel de branqueamento.

Os porta-amostras foram devidamente limpos com álcool a 75%, para se poder realizar medições iniciais dos restantes espécimes, uma vez que não era possível analisar os espécimes todos numa só sessão.

Primeira Aplicação dos Géis de Branqueamento

As amostras do Grupo A (n=15) e do Grupo B (n=15) foram retiradas da água desionizada e secas com compressas esterilizadas.

Após as amostras se encontrarem secas, foi aplicado o gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) às amostras 1 a 15 do grupo A (figura 13-a) e o gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) às amostras 1 a 15 do grupo B (figura 13-b). Na colocação do gel foram aplicados 1 a 2 mm de espessura do produto sobre a superfície de esmalte da amostra, tal como indicado nas instruções dos fabricantes.

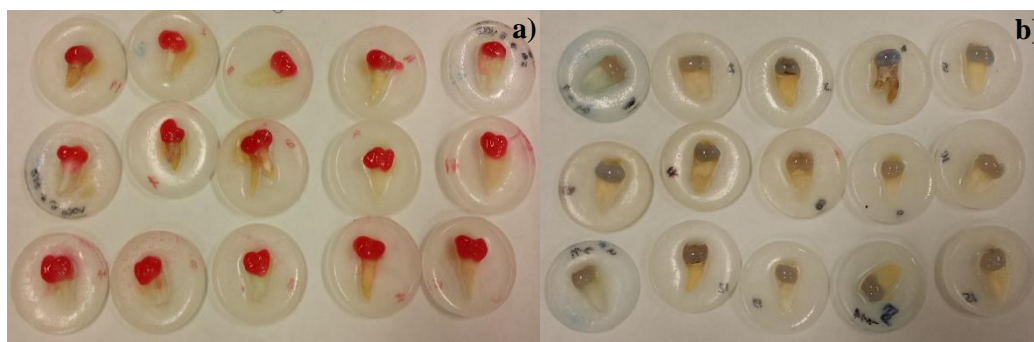


Figura 13 – a) Primeira aplicação do gel no grupo A; **b)** Primeira aplicação do gel no grupo B

Num primeiro momento, ambos os géis ficaram a atuar durante 15 minutos, nas respetivas amostras. Após 15 minutos de aplicação o gel foi removido de todas as amostras com recurso a compressas esterilizadas. Os passos descritos anteriormente nos pontos 3 e 4 foram repetidos mais duas vezes.

Após a terceira e última aplicação procedeu-se à remoção do gel com compressas, e todas as amostras foram passadas por água desionizada durante 10 segundos. As

amostras do grupo A e do grupo B, após a primeira sessão de branqueamento, foram colocadas em água desionizada, em compartimentos separados.

Segunda Aplicação dos Géis de Branqueamento

As amostras do Grupo A e do Grupo B, com os números de 6 a 15 foram retiradas da água desionizada e secas com compressas esterilizadas.

Após as amostras se encontrarem secas, foi aplicado o gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) às amostras 6 a 15 do grupo A (figura 14-a), e o gel de branqueamento Pola Office + (SDI, Dublin, Ireland) às amostras 6 a 15 do grupo B (figura 14-b). Na colocação do gel foram aplicados 1 a 2 mm de espessura do produto sobre a superfície de esmalte da amostra, tal como indicado nas instruções dos fabricantes.

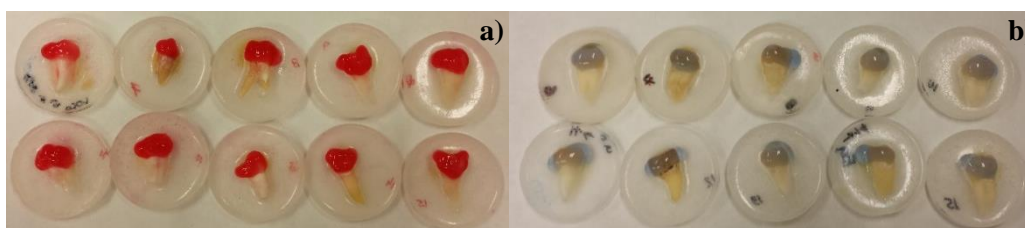


Figura 14 – a) Segunda aplicação do gel no grupo A; **b)** Segunda aplicação do gel no grupo B

Num primeiro momento, ambos os géis ficaram a atuar durante 15 minutos, nas respetivas amostras. Após 15 minutos de aplicação o gel foi removido de todas as amostras com recurso a compressas esterilizadas. Os passos descritos anteriormente nos pontos 3 e 4 foram repetidos mais duas vezes. Após a terceira e última aplicação procedeu-se à remoção do gel com compressas, e todas as amostras foram passadas por água desionizada durante 10 segundos. As amostras do grupo A e do grupo B, após a segunda sessão de branqueamento, foram colocadas em água desionizada, nos respetivos compartimentos.

Terceira Aplicação dos Géis de Branqueamento

As amostras com o número 11 a 15, do Grupo A e do Grupo B, foram retiradas da água desionizada e secas com compressas esterilizadas.

Após as amostras se encontrarem secas, foi aplicado o gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) às amostras 11 a 15 do grupo A (figura 15-a), e o gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) às amostras 11 a 15 do grupo B (figura 15-b). A Na colocação do gel foram aplicados 1 a 2 mm de espessura do produto sobre a superfície de esmalte da amostra, tal como indicado nas instruções dos fabricantes.



Figura 15 – a) Terceira aplicação do gel no grupo A; **b)** Terceira aplicação do gel no grupo B

Num primeiro momento, ambos os géis ficaram a atuar durante 15 minutos, nas respetivas amostras. Após 15 minutos de aplicação o gel foi removido de todas as amostras com recurso a compressas esterilizadas. Os passos descritos anteriormente nos pontos 3 e 4 foram repetidos mais duas vezes. Após a terceira e última aplicação procedeu-se à remoção do gel com compressas, e todas as amostras foram passadas por água durante 10 segundos. As amostras numeradas de 11 a 15, tanto do grupo A como do grupo B, após a terceira e última sessão de branqueamento, foram colocadas em água desionizada, nos seus respetivos compartimentos.

Análise Final com Microscopia de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda (WDRXF)

Após ter sido terminada a fase de aplicação dos géis de branqueamento, as 15 amostras do grupo A e as 15 amostras do grupo B, foram novamente submetidas a uma análise de composição, com recurso à Microscopia de Fluorescência de Raio-x por Dispersão de Comprimento de Onda. Para tal, as amostras foram devidamente retiradas dos compartimentos em água desionizada e secos com compressas esterilizadas, para serem colocadas individualmente no porta-amostras, com recurso a uma pinça

esterilizada. Após término da análise final, as amostras foram retiradas do porta-amostras e colocadas novamente em água desionizada.

Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM)

Após análise da composição elementar final, seis amostras do grupo A, em que duas foram sujeitas a uma aplicação do gel, duas submetidas a duas aplicações e as outras duas a três aplicações do respetivo gel, foram selecionadas. Para o grupo B foram igualmente selecionadas seis amostras, com base no critério descrito anteriormente para o grupo A. Às dozes amostras selecionadas juntaram-se as amostras controlo, com o intuito de serem preparadas para se proceder à análise no Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM), S-2400 (Hitachi com EDS – Bruker). Com recurso a pasta de pedrapomes, o esmalte das amostras foi devidamente limpo.

Após as superfícies do esmalte se encontrarem secas, as amostras foram desidratadas com concentrações crescentes de álcool e água: 25% (20min), 50% (20min), 75% (20min), 95% (30min) e por fim 100% (60min) (Figura 16).



Figura 16 – Álcool com diferentes concentrações para desidratação das amostras

De seguida as amostras foram imersas em hexamethyldisilazano (HMDS), (ReagentPlus® 99.9% Aldrich, St Louis, USA) (Lot# 28796LMV), durante 10 minutos. Após a imersão, as amostras foram colocadas sobre um papel de filtro e deixadas secar à temperatura ambiente numa *hotte* durante 24 horas.

Após 24 horas, as amostras foram aderidas a bases metálicas através de fita condutora, e colocadas em vácuo (Figura 17)



Figura 17 – a) Colocação da amostra na base metálica com recurso a fita condutora;
b) e c) Colocação das amostras em vácuo

Antes de serem observadas no Microscópio Eletrónico de Varrimento, as amostras sofreram metalização com ouro e paládio a uma tensão de 2,4 KV (Figura 18).



Figura 18 – Amostras após sofrerem metalização

Já preparadas, as amostras foram colocadas no Microscópio Eletrónico de Varrimento para serem observadas individualmente (Figura 19).



Figura 19 – Microscópio Eletrónico de Varrimento
(<http://groups.ist.utl.pt/microlab/images/sem.jpg>)

Foram realizadas ampliações de 1000x, 3000x e 5000x, individualmente para cada amostra, obtendo 3 micrografias por amostra.

Análise Estatística

Os valores obtidos da análise da composição do esmalte através do método WDRXF foram submetidos a uma avaliação e interpretação através do programa SPSS.

Com a análise estatística pretendeu-se alcançar dois objetivos específicos:

- 1) Determinar dentro da mesma amostra se os valores iniciais e finais da composição elementar que constitui o esmalte dentário, quando sujeito à ação de um determinado gel de branqueamento, apresenta diferenças estatisticamente significativas;
- 2) Determinar se amostras diferentes, que foram submetidas à ação de géis de branqueamento distintos, apresentam alterações significativas, relativamente à alteração da composição elementar do esmalte dentário após tratamento.

Considerando apenas os valores iniciais e da terceira aplicação de ambos os géis de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) com 35% de peróxido de hidrogénio, e Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) com 6% de peróxido de hidrogénio aplicou-se a ANOVA de medições repetidas de tipo misto, com um fator independente definido pelo gel de branqueamento aplicado.

É importante referir que os resultados poderão ser influenciados face à fraca potência da ANOVA para amostras de tão reduzida dimensão.

IV. RESULTADOS

1. Resultados WDXRF

Inicialmente foi determinada a composição elementar do esmalte dentário com recurso ao método de Microscopia de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda (WDXRF). Dentro dos elementos detetados foram considerados como válidos para análise aqueles que apresentavam um erro estatístico inferior a 10% para todas as amostras, sendo eles cálcio (Ca), fósforo (P), flúor (F), cloro (Cl), zinco (Zn) e cobre (Cu). Elementos como o magnésio (Mg), enxofre (S), estrôncio (Sr) e ferro (Fe) foram desprezados para análise, visto que, só se encontravam presentes em algumas amostras.

Nas tabelas 4 e 5 estão representados os resultados iniciais das medições validadas através do método WDXRF, das amostras previamente separadas e identificadas, para ambos os grupos de estudo.

Posteriormente à aplicação dos géis de branqueamento, os espécimes foram submetidos a nova análise da composição elementar através do método WDXRF, para avaliar a composição final após branqueamento. Nas tabelas 6 e 7 encontram-se os resultados finais da composição elementar, obtidos através do WDXRF para cada espécime do grupo A e grupo B.

Grupo A								
	Amostra	Ca10(PO4)6(OH)2	Ca	P	F	Cl	Zn	Cu
1 Aplicação	1	87.55	29.61	10.1	1.2	0.25	0.178	0.084
	2	95.9	10.2	2.93	0.42	0.384	0.146	0.094
	3	85.71	35.37	12.0	1.1	0.430	0.175	0.092
	4	88.58	28.15	9.28	1.2	0.35	0.173	0.083
	5	86.42	35.22	11.4	0.90	0.42	0.265	0.096
2 Aplicações	6	89.49	31.46	9.42	0.12	0.28	0.146	0.086
	7	86.41	35.57	11.6	0.99	0.24	0.181	0.082
	8	87.27	31.75	10.4	1.3	0.33	0.178	0.077
	9	87.51	32.65	10.8	0.64	0.434	0.222	0.087
	10	86.61	35.29	11.1	0.78	0.520	0.209	0.082
3 Aplicações	11	87.38	33.97	10.7	0.66	0.467	0.221	0.084
	12	87.61	32.55	10.2	1.2	0.35	0.171	0.087
	13	92.7	20.1	6.06	0.54	0.21	0.163	0.10
	14	88.00	33.88	10.1	0.69	0.592	0.137	0.092
	15	91.16	26.10	6.68	0.91	0.714	0.201	0.087

Tabela 4 – Resultados iniciais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo ao qual seria sujeito ao gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany), 35% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime

Grupo B								
	Amostra	Ca10(PO4)6(OH)2	Ca	P	F	Cl	Zn	Cu
1 Aplicação	1	85.73	36.68	12.4	0.83	0.420	0.172	0.087
	2	86.34	37.23	12.3	0.87	0.530	0.182	0.086
	3	84.55	37.56	12.8	1.2	0.39	0.178	0.092
	4	88.46	27.63	9.82	0.81	0.29	0.139	0.084
	5	88.00	30.99	10.2	0.73	0.415	0.197	0.078
2 Aplicações	6	85.14	39.67	12.9	0.82	0.551	0.202	0.084
	7	85.39	37.03	12.3	1.1	0.535	0.211	0.086
	8	88.92	30.10	8.93	1.1	0.33	0.162	0.097
	9	89.34	30.26	8.89	0.70	0.498	0.203	0.086
	10	86.32	32.70	11.5	0.92	0.441	0.162	0.078
3 Aplicações	11	88.45	30.83	9.88	0.67	0.35	0.193	0.086
	12	86.80	31.48	11.1	0.86	0.38	0.195	0.079
	13	88.61	31.62	9.94	0.69	0.37	0.166	0.090
	14	85.82	37.33	12.3	0.64	0.471	0.204	0.099
	15	85.76	37.38	12.5	0.61	0.451	0.174	0.085

Tabela 5 – Resultados iniciais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo ao qual seria sujeito ao gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland), 6% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime

RESULTADOS

		<i>Grupo A</i>						
	Amostra	Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	Ca	P	F	Cl	Zn	Cu
<i>1 Aplicação</i>	1	89.42	26.31	8.87	0.51	0.25	0.181	0.094
	2	90.7	22.5	7.54	0.85	0.24	0.148	0.086
	3	85.16	38.21	13.1	0.46	0.543	0.185	0.081
	4	88.19	29.42	9.85	0.64	0.35	0.182	0.092
	5	83.47	37.85	13.5	0.81	0.454	0.275	0.093
<i>2 Aplicações</i>	6	90.78	23.72	7.96	0.30	0.17	0.121	0.082
	7	86.80	29.12	9.59	2.0	0.23	0.137	0.095
	8	89.39	28.29	8.65	0.87	0.18	0.105	0.093
	9	85.41	37.03	12.8	0.61	0.526	0.251	0.083
	10	87.78	30.80	10.4	0.50	0.38	0.185	0.091
<i>3 Aplicações</i>	11	84.20	37.03	12.9	0.38	0.439	0.178	0.084
	12	85.59	34.85	12.0	0.90	0.35	0.176	0.088
	13	85.73	34.50	12.3	0.72	0.465	0.193	0.095
	14	86.66	35.11	11.5	0.48	0.578	0.156	0.086
	15	86.12	34.0	11.8	0.96	0.510	0.218	0.088

Tabela 6 – Resultados finais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo sujeito ao gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) 35% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime

		<i>Grupo B</i>						
	Amostra	Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	Ca	P	F	Cl	Zn	Cu
<i>1 Aplicação</i>	1	85.27	37.58	13.1	0.47	0.471	0.177	0.085
	2	84.54	38.77	13.2	1.1	0.570	0.198	0.088
	3	86.94	32.33	11.1	0.67	0.24	0.148	0.091
	4	86.36	34.06	11.7	0.85	0.466	0.155	0.071
	5	86.06	34.82	11.8	0.89	0.464	0.218	0.085
<i>2 Aplicações</i>	6	83.95	39.94	13.8	1.1	0.524	0.206	0.093
	7	84.90	36.93	12.5	0.90	0.528	0.236	0.080
	8	86.89	33.88	10.8	1.1	0.32	0.180	0.083
	9	87.04	34.11	11.2	0.47	0.541	0.195	0.087
	10	84.81	37.85	13.3	0.67	0.582	0.172	0.079
<i>3 Aplicações</i>	11	85.48	37.27	12.8	0.62	0.445	0.212	0.088
	12	86.03	33.72	11.9	0.69	0.39	0.186	0.086
	13	85.09	37.15	12.9	0.76	0.558	0.171	0.089
	14	86.40	36.79	12.4	0.74	0.422	0.207	0.081
	15	86.20	34.93	12.1	0.61	0.479	0.176	0.087

Tabela 7 – Resultados finais obtidos através da análise pelo método WDXRF, para o grupo sujeito ao gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland), 6% peróxido de hidrogénio. Nesta tabela encontram-se os elementos dados com válidos que foram detetados de cada espécime

De forma a avaliar o efeito da ação de dois géis diferentes, em dois tempos diferentes, na alteração da composição elementar do esmalte dentário em termos de cálcio (Ca), fosforo (P), flúor (F), zinco (Zn), cloro (Cl) e cobre (Cu), aplicou a ANOVA de medições repetidas de tipo misto, com um fator independente, sendo este definido pelo gel de branqueamento aplicado aos espécimes.

Apenas para os elementos Ca e P foram detetados efeitos significativos, ou seja, para os restantes elementos, Zn, Cl e Cu não foi detetado qualquer alteração estatisticamente significativa.

Para o elemento cálcio (Ca) verificou-se um aumento significativo da concentração com o tratamento ($p = 0.027$), independentemente do gel de branqueamento aplicado ($p = 0.269$), embora a ausência de interação possa ser artificial devido a fraca potência resultante do reduzido tamanho da amostra (gráfico 1). A concentração de Ca não difere significativamente entre os espécimes tratados com diferentes tipos de gel ($p = 0.164$).

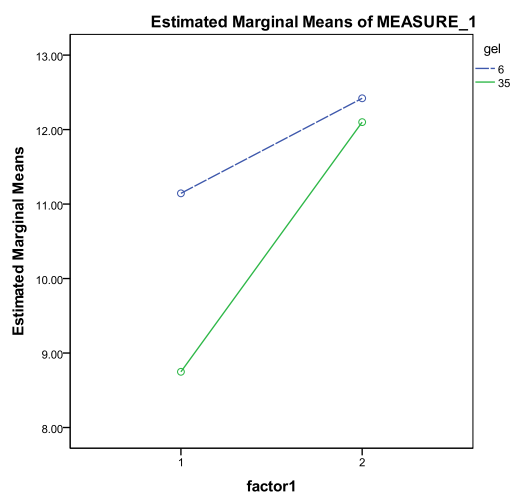


Gráfico 1 – Valores do componente cálcio no esmalte dentário

Para o elemento fósforo verificou-se um aumento significativo da concentração com o tratamento ($p = 0.005$), independentemente do gel de branqueamento aplicado ($p = 0.123$), embora a ausência de interação possa ser artificial devido a fraca potência resultante do reduzido tamanho da amostra (gráfico 2). A concentração de P difere significativamente entre os espécimes tratados com os diferentes géis de branqueamento ($p = 0.04$), sendo esta maior, nos espécimes em que foi aplicado o gel de branqueamento Pola Office + com 6% de Peróxido de Hidrogénio.

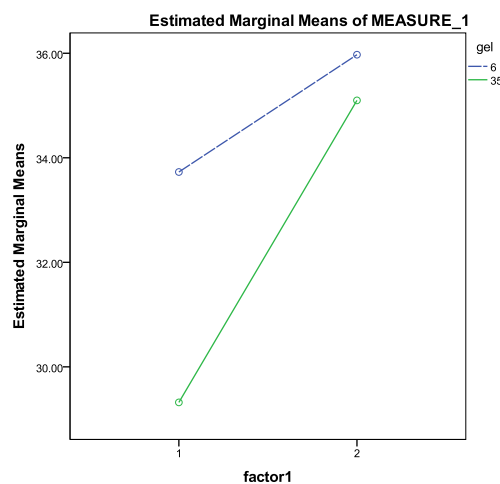


Gráfico 2 – Valores do componente fósforo no esmalte dentário

2. Resultados do Microscópio Eletrónico de Varrimento

Com a análise das amostras submetidas à aplicação do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de peróxido de hidrogénio e Perfect Bleach Office+ com 35% de peróxido de hidrogénio, foram obtidas várias micrografias com diferentes ampliações através do Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM). Para as amostras sujeitas aos diferentes géis de branqueamento foram obtidas micrografias com ampliações de 1000x, 3000x e 5000x, nas três sessões de aplicação.

Com o objetivo de comparar as alterações sofridas nas amostras após contacto com ambos os géis de branqueamento, foram realizadas três micrografias da amostra controlo, que não sofreu qualquer contacto com os géis de branqueamento, mantendo-se apenas em água desionizada durante toda a investigação. As micrografias da amostra controlo na ampliação a 1000x (figura 20-a) (figura 21-a), na ampliação a 3000x (figura 22-a) (figura 23-a), e ampliação a 5000x (figura 24-a) (figura 25-a) permitem observar uma superfície lisa do esmalte dentário.

Através do SEM foi possível recolher micrografias com ampliação de 1000x das amostras sujeitas à ação do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de peróxido de hidrogénio, onde é possível ver alterações com apenas uma aplicação do gel (figura 20-b), com duas aplicações (figura 20-c) e por último com três aplicações do respetivo gel (figura 20-d).

Para os espécimes sujeitos ao gel Pola Office+ com 6% de peróxido de hidrogénio foram recolhidas micrografias através do SEM com ampliação de 1000x referentes às aplicações do gel, onde é possível observar a superfície do esmalte com apenas uma aplicação do gel (figura 21-b), com duas aplicações (figura 21-c) e com três aplicações (figura 21-d).

Foram obtidas micrografias das amostras submetidas ao gel Perfect Bleach Office+ também com ampliação de 3000x. Micrografias estas obtidas pelo SEM, onde é possível observar alterações na superfície do esmalte com uma única aplicação do gel (figura 22-b), com duas aplicações (figura 22-c) e ainda com três aplicações (figura 22-d).

Para as amostras onde foi aplicado o gel Pola Office+ foram realizadas igualmente micrografias com ampliação de 3000x, para amostras sujeitas a uma aplicação do gel (figura 23-b), a duas aplicações (figura 23-c) e a três aplicações do gel (figura 23-d).

Por último, para as amostras referentes à aplicação do gel Perfect Bleach+ foram realizadas micrografias com ampliação de 5000x, nas diferentes sessões de aplicação: uma aplicação (figura 24-b), duas aplicações (figura 24-c) e três aplicações (figura 24-d).

Para as amostras submetidas ao gel Pola Office+ foram realizadas de igual maneira, micrografias com ampliação de 5000x, para uma amostra sujeita a uma única aplicação do gel (figura 25-b), duas aplicações (figura 25-c) e por último a três aplicações (figura 25-d).

Resultados Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM)

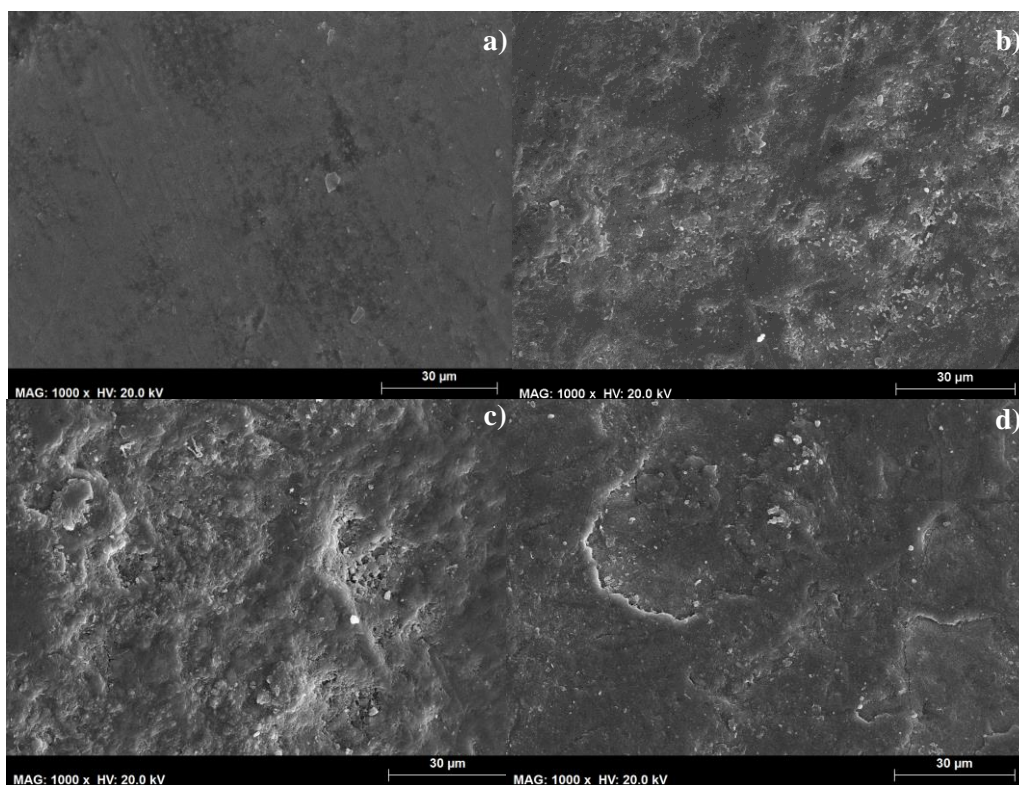


Figura 20 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 1000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.

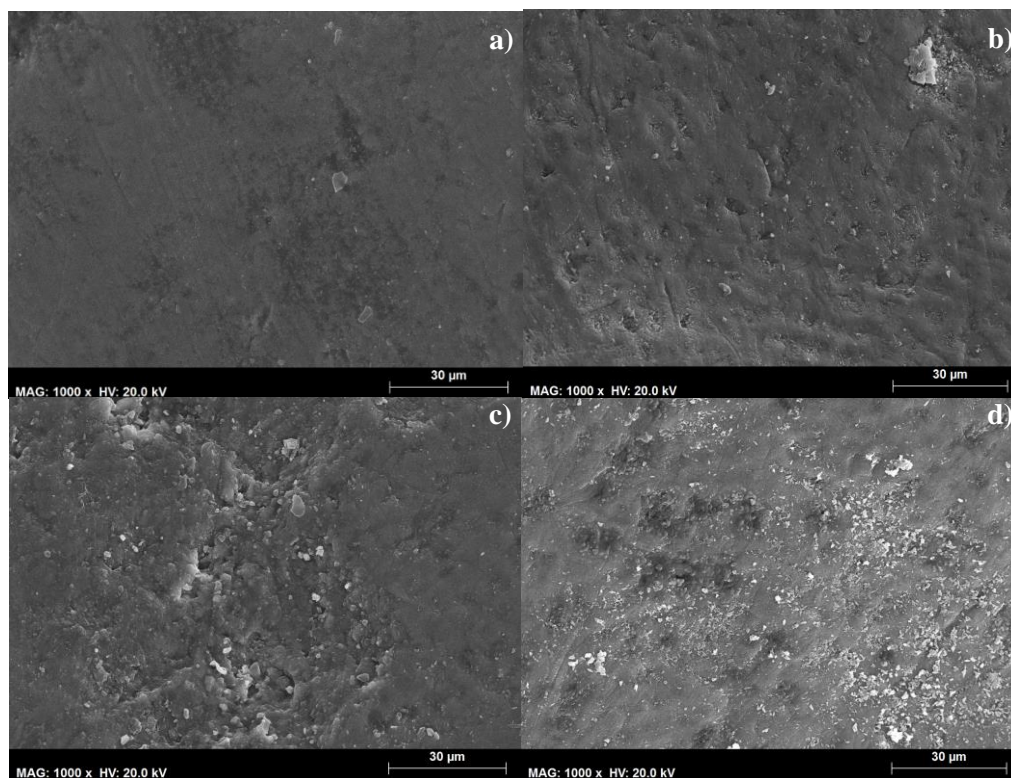


Figura 21 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 1000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.

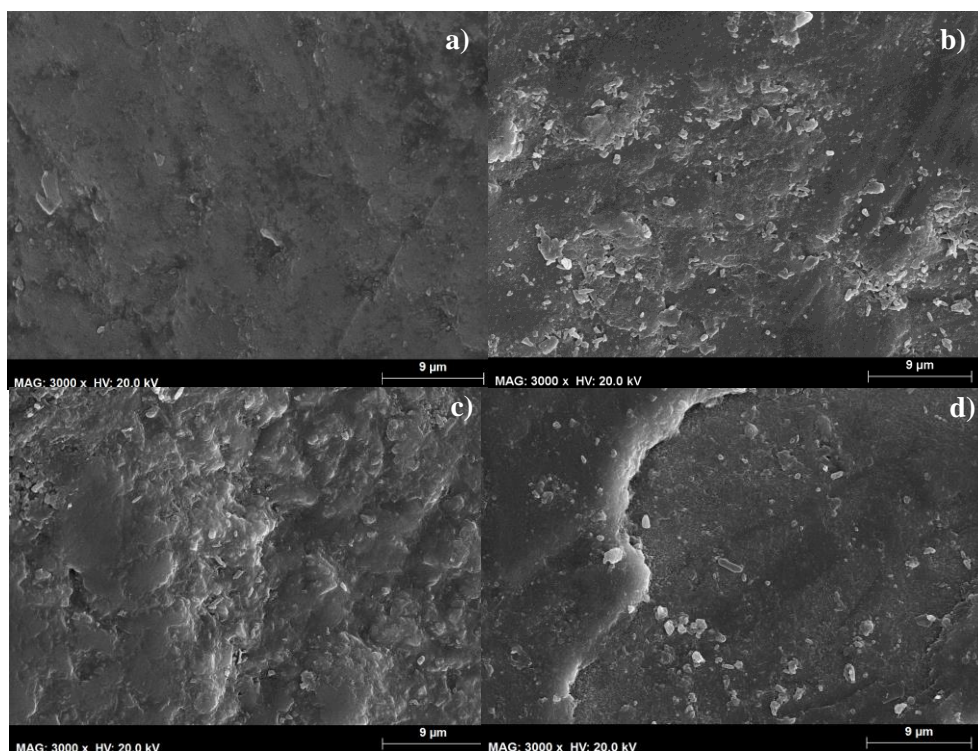


Figura 22 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 3000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.

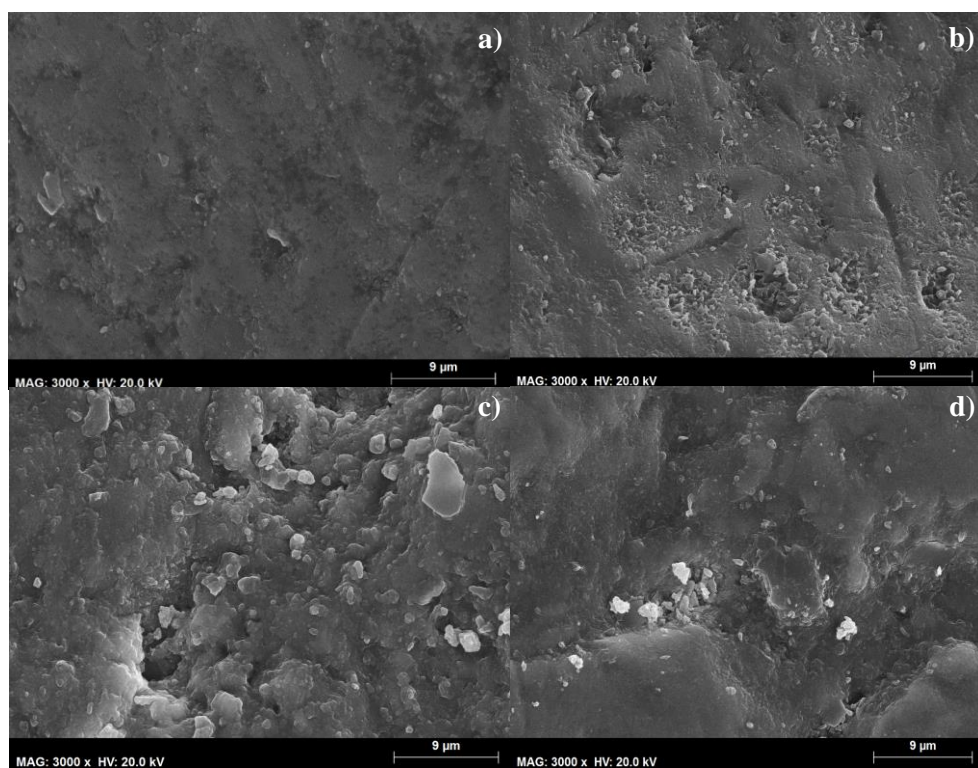


Figura 23 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 3000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.

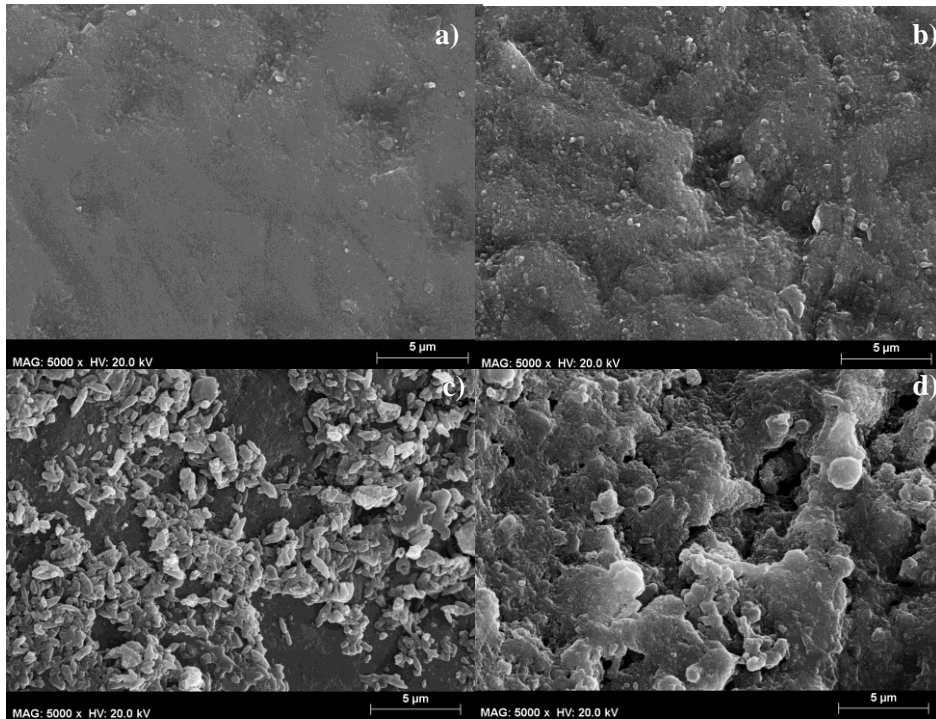


Figura 24 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 5000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.

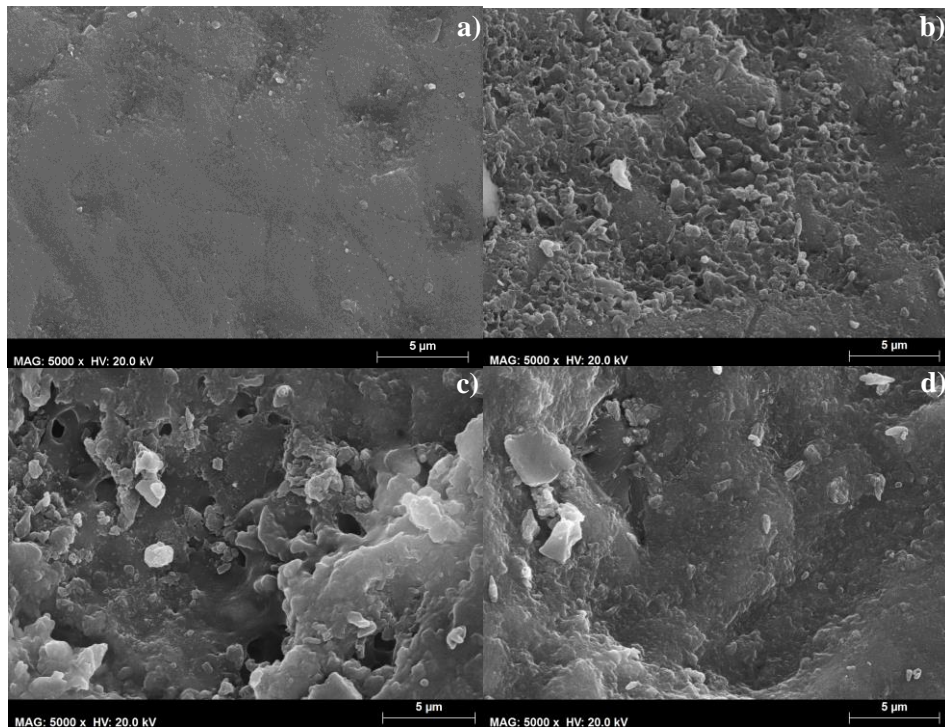


Figura 25 - Micrografias recolhidas do SEM com ampliação de 5000x referentes às amostras submetidas a diferentes números de aplicações do gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de PH: a) Controlo; b) Uma aplicação; c) Duas aplicações; d) Três aplicações.

V. DISCUSSÃO

Nos dias de hoje, o branqueamento dentário surge como um dos tratamentos estéticos mais procurados na sociedade. O baixo custo e os resultados visuais imediatos são fatores de peso que lhe dão cada vez mais popularidade.

Para tentar perceber o mecanismo dos tratamentos de branqueamento dentário, os estudos foram aumentando ao longo dos anos. Apesar das investigações nesta área, ainda existem muitas dúvidas sobre os efeitos que o branqueamento dentário provoca tanto a nível do esmalte como da dentina (Alqahtani, 2014).

Como resultados, alguns estudos apontam alterações na morfologia do esmalte, diminuição do conteúdo mineral, diminuição do conteúdo proteico, alteração do rácio cálcio/fósforo (Abouassi *et al.*, 2011; Alqahtani, 2014). Em oposição, existem estudos que sugerem que não existem qualquer tipo de alterações no esmalte dentário aquando da aplicação de géis de branqueamento dentário (Sun *et al.*, 2011).

1. WDRFX

Através da análise de resultados podemos constatar que houve alterações significativas na composição elementar do esmalte dentário em todas as amostras que foram sujeitas ao tratamento. Comparando os resultados das amostras no momento zero e no final das três sessões de aplicação do tratamento, as amostras de ambos os grupos, A e B, mostraram uma variação significativa na percentagem de elementos que constituem a composição do seu esmalte.

Com base nos resultados obtidos, pela Microscopia de Fluorescência de Raio-X por Dispersão de Comprimento de Onda (WDRFX), foi possível observar um aumento significativo da concentração de Ca (Cálcio) e de P (fósforo) tanto nos espécimes que foram submetidos à ação do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) a 35% de peróxido de hidrogénio, como nos espécimes que foram submetidos à ação do gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) a 6% de peróxido de hidrogénio. Comparando o aumento de cálcio de espécimes que sofreram

ação de diferentes produtos de branqueamento, o aumento foi semelhante, ou seja, estatisticamente não existem diferenças significativas entre os géis de branqueamento.

Relativamente ao P (fósforo) dos espécimes que sofreram ação do gel de branqueamento com 35% de peróxido de hidrogénio, tanto dos espécimes que sofreram tratamento com gel de branqueamento com 6% de peróxido de hidrogénio, ambos sofreram um aumento significativo da concentração de fósforo após o final do tratamento. Comparando o aumento de fósforo entre espécimes que sofreram ação de diferentes produtos de branqueamento, verificaram-se alterações significativas. O aumento de fósforo foi maior nos espécimes em que foi aplicado o gel de branqueamento com 6% de peróxido de hidrogénio.

Estudos recentes, demonstram alterações no conteúdo mineral do esmalte quando sujeitos a diferentes produtos de branqueamento dentário, e com diferentes concentrações. Diferenças essas que surgem mencionadas como diminuição do conteúdo de cálcio e fósforo, podendo ir desde perdas mínimas, a perdas significativas.

Uma investigação de Berger *et al.* (2014) realizada com o intuito de determinar alterações no conteúdo mineral do esmalte, quando sujeito à ação de três diferentes produtos de branqueamento dentário, com 10%, 35% e 50% de peróxido de carbamida respetivamente, mostrou haver uma diminuição significativa da composição mineral do esmalte, nomeadamente cálcio e fósforo. Os espécimes foram divididos em quatro grupos, sendo um deles o grupo controlo ao qual não foi aplicado qualquer tipo de gel, e os restantes três foi-lhe atribuído um dos três diferentes géis. Os géis foram aplicados três vezes na superfície do esmalte, durante 30 minutos cada. Os resultados mostraram não existir alterações significativas entre os diferentes géis, e o número de sessões de aplicação do gel. Comparativamente ao nosso estudo, em que foram utilizados produtos de branqueamento diferentes e com concentrações de peróxido de hidrogénio de 6% e 35%, o WDRFX foi o método de análise da composição elementar utilizado, enquanto no estudo de Berger *et al.* (2014) recorreram a dois métodos diferentes para análise da composição, tendo sido eles: FT-Raman (Fourier Transform) e μ EDXRF (Micro Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry).

Godinho *et al.* (2014) realizou um estudo com o objetivo de avaliar alterações na concentração do cálcio, fósforo e zinco do esmalte dentário, após tratamento com peróxido de carbamida a 10%. O produto foi aplicado segundo as instruções do fabricante e durante a investigação as amostras foram armazenadas em saliva artificial. Através do método de análise μ EDXRF não se verificaram alterações estatisticamente significativas no conteúdo mineral do esmalte dentário. Já no nosso estudo, os produtos utilizados foram à base de peróxido de hidrogénio com 6% e 35% de peróxido de hidrogénio, e durante todo o procedimento as amostras mantiveram-se armazenadas em água desionizada. Para análise de resultados o método escolhido, no nosso estudo, foi o WDRFX, apresentando um aumento estatisticamente significativo relativamente às concentrações de cálcio e fósforo do esmalte.

Iman *et al.* (2013) recorreu ao método de análise LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy) e XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy) para determinar alterações no conteúdo mineral do esmalte dentário. Trinta e dois incisivos centrais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos aos quais lhe correspondeu um gel de branqueamento diferente, sendo eles à base de peróxido de hidrogénio e com concentrações de 25%, 35% e 40%. Os resultados demonstraram ocorrer uma diminuição da concentração de cálcio e fósforo, apesar não ser estatisticamente significativa. Já no nosso estudo, em que se verificou um aumento significativo da concentração de cálcio e fósforo, os produtos utilizados à base de peróxido de hidrogénio apresentavam concentrações de 6% e 35% e o método de análise foi o WDXRF.

Numa investigação de Soares *et al.* (2013), onde foram utilizados incisivos de origem bovina e que foi realizada com o propósito de avaliar o conteúdo mineral do esmalte dentário, antes e depois do tratamento com um gel de branqueamento à base de 16% peróxido de carbamida e outro com 10% de peróxido de carbamida. Ao fim de 14 dias, os seus resultados demonstraram, através do método EDXRF, ocorrer uma diminuição significativa da concentração de cálcio e fósforo, para ambos os géis de branqueamento, apesar de a perda maior se verificar com o gel de branqueamento com 16% de peróxido de branqueamento. Comparativamente, o nosso estudo utilizou produtos diferentes. Optou-se por utilizar géis de branqueamento com peróxido de hidrogénio a 6% e 35% e a aplicação dos géis foi feita durante apenas 3 dias. Para análise de resultados recorreu-se ao WDXRF, onde foi possível constatar um aumento significativo da concentração de cálcio e fósforo.

Contrariamente ao nosso estudo em que se recorreu a peróxido de hidrogénio, Cakir *et al.* (2011) realizou uma investigação com géis de branqueamento à base de peróxido de carbamida com 10%, 20% e 35%. O objetivo era determinar alterações na composição do esmalte dentário. Para isso foram medidas as concentrações de cálcio, potássio, fósforo, magnésio, sódio, flúor e oxigénio, dos sessenta incisivos utilizados, antes de se iniciar a aplicações dos géis. Enquanto no nosso estudo as amostras foram armazenadas em água desionizada, no estudo de Cakir *et al.* (2011) os espécimes foram guardados em água destilada entre aplicações. As amostras submetidas aos três diferentes tipos de géis sofreram resultados bastante semelhantes, não apresentando alterações significativas entre si. Os níveis de cálcio e potássio sofreram uma redução significativa na sua concentração, enquanto os níveis de fósforo, magnésio e sódio mantiveram-se sem alterações significativas, e por último os níveis de flúor e oxigénio mostraram um aumento significativo na sua contração.

Tezel *et al.* (2011) realizou uma investigação com o objetivo de determinar alterações na concentração de cálcio no esmalte, quando sujeito a diferentes produtos de branqueamento e meios de ativação. Optando por produtos diferentes do nosso estudo, foram utilizados produtos com 10% de peróxido de carbamida, 38% peróxido de hidrogénio com ativação através da laser, e 38% peróxido de hidrogénio ativado através de luz. Os resultados indicam que ambos os agentes de branqueamento podem causar alterações na concentração do cálcio, apesar de esta ser mínima, sendo considerada estatisticamente e clinicamente irrelevante. Entre os três métodos de branqueamento aplicados, o que apresentou maiores diferenças na perda de cálcio, foi o peróxido de hidrogénio a 38% sendo a ativação com luz. No nosso estudo, foram apenas aplicados produtos à base de peróxido de hidrogénio, com concentrações de 6% e 35%, e sem se recorrer a nenhum meio de ativação.

Enquanto no nosso estudo o método de análise escolhido foi o WDXRF, Paula *et al.* (2010) recorreu ao método FT-Raman e EDXRF para avaliar alterações na composição do esmalte dentário. Como gel de branqueamento utilizou-se um produto com 38% de peróxido de hidrogénio, ou seja diferente dos produtos escolhidos no nosso estudo, que apresentavam 6% e 35% de peróxido de hidrogénio. Os resultados obtidos mostraram uma perda de conteúdo mineral. Tanto os valores de cálcio e fósforo apresentaram uma descida significativa da sua concentração, em oposição ao nosso estudo que mostraram um aumento significativo, quanto quando aplicado o gel Pola Office+ com 6% de

peróxido de hidrogénio, como quando aplicado o gel Perfect Bleach Office+ com 35% de peróxido de hidrogénio.

Como explicações para os diferentes resultados entre o presente estudo realizado e as investigações realizadas até aos dias de hoje, e anteriormente referidas, pode estar o recurso a diferentes produtos de branqueamento dentário, com diferentes características como diferentes ingredientes, diferentes pH, diferentes concentrações, diferentes agentes, ou devido a diferentes protocolos, diferentes tempos de aplicações e diferentes origens das amostras utilizadas.

2. Microscópio Eletrónico de Varrimento

Através das micrografias obtidas com recurso ao Microscópio Eletrónico de Varrimento pode-se observar uma notória alteração na superfície do esmalte dentário.

Comparando as micrografias das amostras controlo, com as micrografias obtidas das amostras submetidas tanto ao gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany), como as amostras submetidas ao gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland), em diferentes sessões de aplicação, é possível observar uma maior rugosidade de superfície no esmalte dentário.

As micrografias obtidas dos espécimes que sofreram ação do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany) a 35% de peróxido de hidrogénio apresentam alterações na superfície do esmalte dentário logo após uma sessão de aplicação do gel de branqueamento. Estas alterações são visíveis tanto nas micrografias com ampliação de 1000x (figura 20-b), de 3000x (figura 22-b), como de 5000x (figura 24-b). A superfície do esmalte mostra-se com maior rugosidade e com mais porosidades. Com duas sessões de aplicação do gel de branqueamento as alterações na superfície do esmalte são ainda mais evidentes, tanto nas micrografias com uma ampliação de 1000x (figura 20-c), como de 3000x (figura 22-c), e de 5000x (figura 24-c). Por último, pela observação das micrografias correspondentes à terceira aplicação do gel de branqueamento na ampliação de 1000x (figura 20-d), de 3000x (figura 22-d) e 5000x (figura 24-d) a alteração de superfície do esmalte é ainda maior, comparando com as micrografias da primeira e segunda aplicação do tratamento. Pode-se colocar como hipótese, que a alteração de superfície do esmalte é gradual consoante o número de

aplicações do gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ (VOCO, Cuxhaven, Germany).

Analisando as micrografias obtidas dos espécimes que sofreram tratamento com o gel de branqueamento Pola Office+ (SDI, Dublin, Ireland) a 6% de peróxido de hidrogénio é possível observar alterações na superfície do esmalte dentário. Alterações essas que resultaram no aumento da porosidade e rugosidade do esmalte dentário e que se tornam visíveis nas micrografias com ampliação de 1000x, 3000x e 5000x. As micrografias com ampliação de 1000x (figura 21-b), 3000x (figura 23-b) e 5000x (figura 25-b), obtidas nos espécimes que sofreram apenas uma aplicação do gel de branqueamento mostram já alguma rugosidade e porosidade na superfície do esmalte. Com duas aplicações do gel, é visível uma maior alteração na superfície do esmalte, quando comparado com as micrografias dos espécimes que sofreu apenas uma aplicação do gel. Alterações estas visíveis nas micrografias com ampliação de 1000x (figura 21-c), ampliação 3000x (figura 23-c) e ainda ampliação de 5000x (figura 25-c). Por último, as micrografias correspondentes ao esmalte dentário que sofreu três aplicações do gel de branqueamento a 6% de peróxido de hidrogénio, tanto com 1000x de ampliação (figura 21-d), como 3000x (figura 23-d) e ainda 5000x (figura 25-d) apresentam alterações mais relevantes quando comparando com as micrografias correspondentes às aplicações de uma e duas vezes.

Comparando os resultados da investigação realizada com estudos já existentes deparamo-nos com resultados bastante controversos, no que toca à alteração da superfície do esmalte dentário quando sujeito à ação de um gel de branqueamento dentário.

Ao longo dos anos a curiosidade de perceber quais as consequências do uso de géis de branqueamento no esmalte levaram à realização de investigações com diferentes produtos de branqueamento, e com diferentes concentrações. Para análise dos resultados na superfície do esmalte dentário, vários estudos recorrem ao Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM), tal como foi utilizado na presente investigação (Alexandrino *et al.*, 2014; Kemaloglu *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2014).

Um estudo de Dudea *et al.* (2009), de forma a detetar alterações na morfologia do esmalte dentário recorreu a um gel de branqueamento com 15% de peróxido de carbamida, ou invés de optar por um produto à base de 6% ou 35% de peróxido de

hidrogénio, tal como no nosso estudo. As alterações foram estudadas com apenas um dia de aplicação, e ao fim de 14 dias, durante os quais foram aplicado o gel. Dentro dos 14 dias diferenciou-se também os resultados segundo o número de horas por dia em que era aplicado o gel. Os resultados mostraram não ocorrer alterações significativas no grupo em que foi apenas colocado o gel durante apenas um dia. Já nos grupos que sofreram aplicação do gel durante 14 dias, tanto as amostras sujeitas a 3 horas de aplicação, como as amostras sujeitas a 8 horas de aplicação diária, mostraram alterações morfológicas relevantes. Comparativamente ao nosso estudo, as alterações mostraram-se visíveis logo após apenas um dia de aplicação do gel de branqueamento, tanto com 6% de peróxido de hidrogénio, como 35%.

Abouassi *et al.* (2011) na sua investigação pretendeu detetar alterações na superfície do esmalte de incisivos bovinos, quando sujeitos à ação de 10% e 35% de peróxido de carbamida, e ainda 3,6% e 10% de peróxido de hidrogénio. As amostras de cada grupo, foram sujeitas à aplicação do gel de branqueamento durante 2 horas por dia, num período total de duas semanas. O grupo que apresentou mais alterações morfológicas no esmalte dentário foi o grupo onde as amostras foram sujeitos ao gel de branqueamento com 10% de peróxido de hidrogénio, Os restantes apresentavam alterações consideradas mínimas.

Num estudo de Kemalglu *et al.* (2014) surge descrito que a aplicação de 10% de Peróxido de Carbamida, quando em contacto com o esmalte, provoca ligeiras alterações na superfície dentária. No mesmo estudo, mas com produtos de peróxido de hidrogénio a 25% e 38% Kemalglu *et al.* (2014) reporta existirem também alterações na morfologia do esmalte. Apesar de terem sido utilizados produtos diferentes no nosso estudo, como peróxido de hidrogénio a 6% e 35%, os resultados também mostraram existirem alterações na superfície do esmalte.

Mesmo com concentrações mais altas de peróxido de carbamida, como 16% e 22%, Junqueira *et al.* (2011) pretendeu avaliar qual a ação dos produtos na superfície do esmalte dentário. Para isso criou quatro grupos de estudo, onde no grupo 1 realizou apenas uma sessão de aplicação do gel a 16%, no grupo 2 fez três aplicações do gel a 16%, no grupo 3 aplicou apenas uma vez o gel a 22% e por último no grupo 4 aplicou três vezes o gel a 22%. Cada sessão demorava 8 horas de aplicação diária durante uma semana, e o período de tempo entre cada sessão era de 45 dias. Neste período de repouso, as amostras foram armazenadas em saliva artificial a 37°C. Após concluídas as respetivas sessões, as

amostras foram analisadas no SEM, sendo visíveis alterações morfológicas como depressões, irregularidades, erosão e exposição dos prismas de esmalte. Alterações estas que se mostraram mais evidentes com a concentração mais alta de peróxido de carbamida. Já no nosso estudo, apesar de terem sido também evidenciadas também alterações na superfície do esmalte dentário, o protocolo experimental e os produtos de branqueamento utilizados foram diferentes. Optou-se por recorrer a peróxido de hidrogénio a 6% e 35%, e foram realizadas 3 sessões de aplicação do gel. O período de intervalo de cada sessão foi apenas um dia, no qual as amostras mantiveram-se armazenadas em água desionizada.

Estudos mais antigos como Pinto *et al.* (2004) em que foram utilizados produtos com 10%, 35% e 37% de peróxido de carbamida, e ainda 7.5% e 35% de peróxido de hidrogénio, mostraram existirem alterações na superfície do esmalte dentário. Alterações estas que se mostraram mais evidentes nas amostras sujeitas ao gel de branqueamento com 35% de peróxido de hidrogénio, e 35% de peróxido de carbamida. Durante o período de estudo, os espécimes foram armazenados em saliva artificial a 37°C, tendo sido mudados para água desionizada, apenas 24 horas antes de serem analisados. No presente estudo realizado, os espécimes mantiveram-se sempre armazenados em água desionizada durante toda a investigação, e foram utilizados apenas produtos com 6% e 35% de peróxido de hidrogénio.

Sasaki *et al.* (2009) com o objetivo de estudar os efeitos de um gel de branqueamento com 10% de peróxido de carbamida e outro 7.5% de peróxido de hidrogénio, na superfície do esmalte dentário, aplicou cada gel de branqueamento durante 1 hora por dia nas respetivas amostras, durante um período total de 21 dias. A análise de resultados foi feita, 14 dias após o final do tratamento, período este no qual os espécimes foram mantidos em saliva artificial. Os resultados mostraram haver alterações na morfologia do esmalte nas amostras submetidas tanto ao gel com 10% de peróxido de carbamida, como com 7,5% de peróxido de hidrogénio. No nosso estudo, apesar de também se terem verificado alterações no esmalte, os produtos de branqueamento escolhidos apresentavam 6% e 35% de peróxido de hidrogénio. As nossas amostras mantiveram-se sempre armazenadas em água desionizada, e foram apenas sujeitas a três dias de aplicação do gel de branqueamento, com um dia de intervalo entre cada uma.

Monteiro *et al.* (2014) com o objetivo de detetar alterações na superfície do esmalte através do SEM recorreu a um gel de branqueamento com pH neutro e com 35%

de peróxido de hidrogénio, tal como no nosso estudo. Durante o tratamento os espécimes sofreram fotoativação através de LED. Como resultados do referido estudo, não se mostraram existir alterações na superfície do esmalte dentário quando sujeito à ação de um produto de branqueamento com 35% de peróxido de hidrogénio e com um pH neutro. Contudo, no nosso, não foi utilizado um método de fotoativação e como resultados foram visíveis alterações na superfície do esmalte.

Num estudo de Alexandrino *et al.* (2014) pretendeu-se avaliar alterações na morfologia do esmalte dentário, com produtos à base de peróxido de hidrogénio, em que ambos apresentavam 35% de peróxido de hidrogénio, e a diferença consistia na presença de cálcio na composição de um, enquanto que o outro não. As amostras de ambos os grupos foram submetidas a três sessões de aplicação do gel de branqueamento, período no qual se mantiveram armazenados em saliva artificial a 37°C. Através da análise das micrografias obtidas dos dois grupos, não foram detetadas alterações morfológicas na superfície do esmalte dentário. No nosso estudo, foram utilizados dois produtos com peróxido de hidrogénio, mas com concentrações diferentes de 6% e 35%. Nenhum destes produtos apresentavam cálcio na sua composição. Ao fim de três sessões de aplicação, nos espécimes de ambos os grupos foram detetadas alterações morfológicas na superfície do esmalte dentário.

Todo este dilema com resultados contraditórios em várias investigações pode ter como causas, o tipo de produto utilizado no estudo, a sua concentração, do tempo de exposição, o meio de armazenamento das amostras e o valor do pH do produto (Junqueira *et al.*, 2011; Sa *et al.*, 2013). As diferenças nos protocolos experimentais que foram seguidos em cada investigação pode ser também uma das justificações para resultados não unânimes.

Surge na literatura, que o esmalte dentário quando sujeito a um produto de branqueamento dentário com 30% de peróxido de hidrogénio, quando num meio com pH=3 e pH=5, ou seja, abaixo do pH crítico (pH=5.5), apresenta alterações morfológicas evidentes no esmalte dentário quando analisado no SEM. Esse mesmo produto, quando num meio com pH=7 apresenta pequenas alterações morfológicas no esmalte, e quando num meio com pH=8 as alterações que apresenta não consideradas como não significativas, pois não muito poucas. Resultados estes que ajudam a fundamentar que o pH do produto de branqueamento pode ser um fator de peso na influência dos resultados (Xu *et al.*, 2011).

VI. CONCLUSÃO

Após análise dos resultados obtidos através da Microscopia de Fluorescência de Raio-X por Dispersão do Comprimento de Onda (WDRFX) e do Microscópio Eletrónico de Varrimento (SEM) e com as limitações do presente estudo, foi possível concluir o seguinte:

1. Verificaram-se alterações na composição e morfologia do esmalte quando sujeito tanto à ação de um gel de branqueamento com 6% de peróxido de hidrogénio, como com 35% peróxido de hidrogénio.
2. Constatou-se haver um aumento significativo da concentração apenas dos elementos cálcio e fósforo, no esmalte dentário, enquanto para os elementos zinco, cloro e cobre não foram detetadas alterações estatisticamente significativas.
3. O aumento de cálcio verificou-se ser estatisticamente significativo, independentemente do gel de branqueamento aplicado.
4. Comparando o aumento de cálcio, entre as amostras sujeitas aos diferentes tipos de géis, não se mostraram haver diferenças estatisticamente significativas.
5. Para o elemento fósforo houve um aumento estatisticamente significativo, independentemente do gel de branqueamento aplicado.
6. Comparando o aumento do fósforo, entre as amostras sujeitas aos diferentes tipos de géis, houve uma diferença significativa, tendo sido maior o aumento nos espécimes tratados com o gel de branqueamento Pola Office+ com 6% de peróxido de hidrogénio.
7. A morfologia do esmalte dentário também mostrou apresentar alterações quando sujeito à ação de ambos os géis de branqueamento.
8. As alterações morfológicas mostraram-se ir aumentando consoante o aumento de aplicações, nas amostras sujeitas aos diferentes tipos de géis.
9. Visualmente as alterações mostram-se ser maiores nas amostras sujeitas ao gel de branqueamento Perfect Bleach Office+ com 35% de peróxido de hidrogénio.

Com base nas conclusões, ambas as hipóteses nulas são rejeitadas, e as hipóteses alternativas são aceites.

VII. BIBLIOGRAFIA

Abouassi, T., Wolkewitz, M., & Hahn, P. (2011). Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clin. Oral Investig.*, 15(5), 673–80.

Anusavice, K. J. (2003). *Phillips' Science of Dental Material*, 11^a edição, pp 69- 96 Philadelphia, Pennsylvania: W. B Saunders Company. ISBN: 0-7216-9387-3.

Alexandrino, L., Gomes Y., Alves, E., Costi, H., & Rogez, H.& Silva., C. (2014). Effects of a bleaching agent with calcium on bovine enamel. *Eur. J. Dent.*, 8(3), 320-325.

Alf, B., Mn, G., Francci, C., Marson, F. C., & Gomes, M. N. (2010). Clareamento dental – Técnicas e conceitos atuais. *Rev Assoc Paul Cir Dent*, (1), 78–89.

Alkhtib, A., Manton, D. J., Burrow, M. F., Saber-Samandari, S., Palamara, J. E. a, Gross, K. a, & Reynolds, E. C. (2013). Effects of bleaching agents and Tooth Mousse(™) on human enamel hardness. *J.of Investig. Clin. Dent.*, 4(2), 94–100.

Alqahtani, M. Q. (2014). Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J.*, 26(2), 33–46.

An, B., Wang, R., & Zhang, D. (2012). Role of crystal arrangement on the mechanical performance of enamel. *Acta Biomater.*, 8(10), 3784–93.

Avery, J.k. (2002). *Oral Development and Histology*, 3^a Edição, pp 153-158, 172-179, New York, USA: Thieme. ISBN: 3-13-100193-3.

Bajaj, D., & Arola, D. D. (2009). On the R-curve behavior of human tooth enamel. *Biomaterials*, 30(23-24), 4037–46.

Berger, S. B., Soares, L. E. S., Martin, A. A., Ambrosano, G. M. B., Tabchoury, C. P. M., & Giannini, M. (2014). Effects of various hydrogen peroxide bleaching concentrations and number of applications on enamel. *Brazilian Journal of Oral Science*, 13(1).

- Berger, S. B., Pavan, S., Dos Santos, P. H., Giannini, M., & Bedran-Russo, A. K. B. (2012). Effect of bleaching on sound enamel and with early artificial caries lesions using confocal laser microscopy. *Braz. Dent. J.*, 23(2), 110–5.
- Berkovitz, B. K. B., Holland, G. R., & Moxham, B. J. (2009). Oral Anatomy, Embryology and Histology, 3ª Edição, pp 105-110, 129-139, New York: Mosby Elsevier. ISBN: 0723431817.
- Bernardon, J. K., Sartori, N., Ballarin, A., Perdigão, J., Lopes, G. C., & Baratieri, L. N. (2010). Clinical performance of vital bleaching techniques. *Operative Dentistry*, 35(1), 3–10.
- Bird, D. L., & Robinson, D. S., (2012). Modern Dental Assisting, 10ª Edição, pp 96-99, Riverport Lane, St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. ISBN-13: 978-1437717297.
- Bonafé, E., Bacovis, C. L., Iensen, S., Loguercio, A. D., Reis, A., & Kossatz, S. (2013). Tooth sensitivity and efficacy of in-office bleaching in restored teeth. *J.Dent*, 41(4), 363–9.
- Borges, A. B., Samezima, L. Y., Fonseca, L. P., Yui, K. C. K., Borges, A. L. S., & Torres, C. R. G. (2009). Influence of potentially remineralizing agents on bleached enamel microhardness. *Operative Dentistry*, 34(5), 593–7.
- Borges, A. B., Yui, K. C. K., D’Avila, T. C., Takahashi, C. L., Torres, C. R. G., & Borges, A. L. S. (2010). Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Operative Dentistry*, 35(2), 180–6.
- Briso, A. L. F., Fonseca, M. S. M., Almeida, L. C. A. G., Mauro, S. J., & Santos, P. H. (2010). Color alteration in teeth subjected to different bleaching techniques. *Laser Phys*, 20(12), 2066–2069.
- Buchalla, W., & Attin, T. (2007). External bleaching therapy with activation by heat, light or laser - A systematic review. *Dental Materials*, 23(5), 586-96.
- Cakir, F. Y., Korkmaz, Y., Firat, E., Oztas, S. S., & Gurgan, S. (2011). Chemical analysis of enamel and dentin following the application of three different at-home bleaching systems. *Operative Dentistry*, 36(5), 529-536.

- Carey, C. M. (2014). Tooth Whitening: What We Now Know. *J.Evid. Based Dent Pract.*
- Chatzistavrou, X., Papagerakis, S., Ma, P. X., & Papagerakis, P. (2012). Innovative approaches to regenerate enamel and dentin. *Int J. Dent.* doi:10.1155/2012/85647
- Chun, K. J., Choi, H. H., & Lee, J. Y. (2014). Comparison of mechanical property and role between enamel and dentin in the human teeth. *J. Dent Biomech.* doi:10.1177/175873601452080.
- Dahl, J., Pallesen, U. (2003). Tooth bleaching - A critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14(4), 292-304.
- D'Arce, M. B. F., Lima, D. a N. L., Aguiar, F. H. B., Bertoldo, C. E. S., Ambrosano, G. M. B., & Lovadino, J. R. (2013). Effectiveness of dental bleaching in depth after using different bleaching agents. *J Clin Exp Dent*, 5(2), e100–7.
- De Arruda, A. M., dos Santos, P. H., Sundfeld, R. H., Berger, S. B., & Briso, A. L. F. (2012). Effect of hydrogen peroxide at 35% on the morphology of enamel and interference in the de-remineralization process: an in situ study. *Operative Dentistry*, 37(5), 518–25.
- De Menezes Oliveira, M. A. H., Torres, C. P., Gomes-Silva, J. M., Chinelatti, M. A., De Menezes, F. C. H., Palma-Dibb, R. G., & Borsatto, M. C. (2010). Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech*, 73(5), 572–7.
- Demarco, F. F., Meireles, S. S., Sarmiento, H. R., Dantas, R. V. F., Botero, T., & Tarquinio, S. B. C. (2011). Erosion and abrasion on dental structures undergoing at-home bleaching. *Clin Cosmet Investig Dent*, 3, 45–52.
- Dietschi, D., Bendachir, N., & Dent, M. (2010). In vitro colorimetric evaluation of the efficacy of home bleaching and over-the-counter. *Quintessence Internation*, 41(6), 505–516.
- Dudea, D., Florea, A, MiHu, C., Câmpeanu, R., Nicola, C., & Benga, G. (2009). The use of scanning electron microscopy in evaluating the effect of a bleaching agent on the enamel surface. *Rom J Morphol Embryol*, 50(3), 435–40.

- Eimar, H., Siciliano, R., Abdallah, M.-N., Nader, S. A., Amin, W. M., Martinez, P.-P., ... Tamimi, F. (2012). Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *J Dent, 40 Suppl 2*, e25–33
- Emoto, M., Tomita, K., Kanemaru, N., Tokuda, M., & Torii, M. (2012). Development of surface coating material for discolored tooth equipped with bleaching effect. *Dent Mater J, 31(5)*, 797–805.
- Field, J., Waterhouse, P., & German, M. (2010). Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *J Dent, 38(3)*, 182–190
- Ghadimi, E., Eimar, H., Marelli, B., Nazhat, S. N., Asgharian, M., Vali, H., & Tamimi, F. (2013). Trace elements can influence the physical properties of tooth enamel. *SpringerPlus, 2*, 499
- Ghadimi, E., Eimar, H., Song, J., Marelli, B., Ciobanu, O., Abdallah, M.-N., ... Tamimi, F. (2014). Regulated fracture in tooth enamel: A nanotechnological strategy from nature. *J Biomech, 1–8*.
- Godinho, J., Silveira, J., Mata, A., Carvalho, M. L., Pessanha, S. (2014). Effect of bleaching gel in Ca, P and Zn content in tooth enamel evaluated by μ -EDXRF. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B, 377*, 78-82.
- Goldberg, M., Grootveld, M., & Lynch, E. (2010). Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. *Clin Oral Investig, 14(1)*, 1–10.
- Goodacre, C. J., & Sagel, P. A. (2011). Part 3 - Understanding Color & Shade Selection. *Crest® Oral-B® at dentalcare.com Continuing Education Course*.
- Haywood, V.B., & Heymann. H.O. (1989). Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int., 20(3)*:173-6.
- He, L.-B., Shao, M.-Y., Tan, K., Xu, X., & Li, J.-Y. (2012). The effects of light on bleaching and tooth sensitivity during in-office vital bleaching: a systematic review and meta-analysis. *J Dent, 40(8)*, 644–53.

Hilton, T. J., Ferrance, J.L., & Broome, J.C. (2013). *Summitt's Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*, 4ª Edição, pp 79-86, 415-442, Hanover Park, IL : Quintessence Publishing Co. Inc. ISBN-13: 978-086715528.

Iman, H., Ahmed, D., & Eldakrouri, A. (2013). Elemental content of enamel and dentin after bleaching of teeth (a comparative study between laser-induced breakdown spectroscopy and x-ray photoelectron spectroscopy). *J Appl Phys*, 113(23), 234701.

Junqueira, R. B., Carvalho, R. F., Carmo, A. M. R., Devito, K. L., Rodrigues, S. S. F. G., & Salvio, L. A. (2013). In vitro Analysis of Human Enamel Microhardness as Subjected to Prolonged Use of External Bleaching Agents. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*. 141–144.

Kemaloglu, H., Atalayin, C., & Tezel, H. (2014). Scanning Electron Microscopy Investigation Of Enamel Surface Treated With Different Bleaching Agents. *Dentistry*, 04(04).

Kwon, S. R., Kurti, S. R., Oyoyo, U., & Li, Y. (2014). Effect of various tooth whitening modalities on microhardness, surface roughness and surface morphology of the enamel. *Odontology / the Society of the Nippon Dental University*. doi:10.1007/s10266-014-0163-4

Kwon, S. R., Oyoyo, U., & Li, Y. (2013). Effect of light activation on tooth whitening efficacy and hydrogen peroxide penetration: an in vitro study. *J Dent*, 41 Suppl 3, e39–45.

Li, Y., & Greenwall, L. (2013). Safety issues of tooth whitening using peroxide-based materials. *Br Dent J*, 215(1), 29–34.

Lima, F. G., Rotta, T. A., Penso, S., Meireles, S. S., & Demarco, F. F. (2012). In vitro evaluation of the whitening effect of mouth rinses containing hydrogen peroxide. *Br Oral Res*, 26(3), 269–74.

Llambes, G., Llana, C., Amengual, J., & Forner, L. (2011). In vitro evaluation of the efficacy of two bleaching procedures. *Med Oral Patol Oral Y Cir Bucal*, 16(6), e845–e851.

Lorenzo, J. A., & Navarro, L. F. (2008). Atlas Terapéutico de blanqueamiento dental, 1ª Edição, pp 6-13, Barcelona: Ediciones Especializadas Europeas. ISBN: 84-612-6094-2.

Markowitz, K. (2010). Pretty painful: why does tooth bleaching hurt? *Med Hypotheses*, 74(5), 835–40.

Martin-Biedma, B., Gonzalez-Gonzalez, T., Lopes, M., Lopes, L., Vilar, R., Bahillo, J., & Varela-Patiño, P. (2010). Colorimeter and scanning electron microscopy analysis of teeth submitted to internal bleaching. *J Endod*, 36(2), 334–7.

Mescher, A.L., (2013). Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 13ª Edição, pp 294-298, The McGraw-Hill Companies, Inc. ISBN-13: 978-0071780339

Moncada, G., Sepúlveda, D., Elphick, K., Contente, M., Estay, J., Bahamondes, V., ... Martin, J. (2013). Effects of light activation, agent concentration, and tooth thickness on dental sensitivity after bleaching. *Operative Dentistry*, 38(5), 467–476.

Mondelli, R. F. L., Azevedo, J. F. D. E. G. De, Francisconi, A. C., Almeida, C. M. De, & Ishikiriyama, S. K. (2012). Comparative clinical study of the effectiveness of different dental bleaching methods - two year follow-up. *J Appl Oral Sci : Revista FOB*, 20(4), 435–43

Monteiro, J. S. C., de Oliveira, S. C. P. S., Zanin, F. a. a., Santos, G. M. P., Sampaio, F. J. P., Gomes Júnior, R. A., ... Pinheiro, A. L. B. (2014). Evaluation of enamel by scanning electron microscopy green LED associated to hydrogen peroxide 35% for dental bleaching. *SPIE*, 8932, 893214. doi:10.1117/12.2038558

Nanci, A. (2013). Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function, 8ª Edição, pp 122-126, 165-170, Elsevier Mosby. ISBN-13: 978-0323078467.

Oliveira, E.A. Confiabilidade metrológica na determinação de espécies químicas em materiais siderúrgicos por espectrometria de fluorescência de raios-x. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro - Puc-Rio. (2011).

Disponível em: http://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/18799/18799_6.PDF

Park, S., Wang, D. H., Zhang, D., Romberg, E., & Arola, D. (2008). Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 19(6), 2317–2324.

Paula, S. S., Soares, L. E. S., Santo, A. M. E., Martin, A. A., Cavalli, V., & Liporoni, P. C. S. (2010). FT-Raman and Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometric Analyses of Enamel Submitted to 38% Hydrogen Peroxide Bleaching, na Acidic Beverage, and Simulated Brushing. *Photomedicine and Laser Surgery*, 28(3), 391-396.

Pedreira de Freitas, A. C., Espejo, L. C., Botta, S. B., Teixeira, F. D. S., Luz, M. A. a. C., Garone-Netto, N., ... Salvadori, M. C. B. D. S. (2010). AFM analysis of bleaching effects on dental enamel microtopography. *Appl Surf Sci*, 256(9), 2915–2919.

Pinto, C. F., Oliveira, R., Cavalli, V., & Giannini, M. (2004). Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness , roughness and morphology. *Braz Oral Res*, 18(4), 306–311.

Plotino, G., Buono, L., Grande, N. M., Pameijer, C. H., & Somma, F. (2008). Nonvital tooth bleaching: a review of the literature and clinical procedures. *J Endod*, 34(4), 394–407.

Reis, A., Tay, L. Y., Herrera, D. R., Kossatz, S., & Loguercio, A. D. (2011). Clinical effects of prolonged application time of an in-office bleaching gel. *Operative Dentistry*, 36(6), 590–596.

Sa, Y., Sun, L., Wang, Z., Ma, X., Liang, S., Xing, W., Jiang, T., & Wang, Y. (2013). Effects of two in-office bleaching agents with different pH on the structure of human enamel: an in situ and in vitro study. *Operative Dentistry*, 38(1), 100–110.

Sasaki, R. T., Arcanjo, A. J., Flórido, F. M., & Basting, R. T. (2009). Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10 % carbamide. *J Appl Oral Sci*, 17(6), 611–616.

Shammas, M., & Alla, R. K. (2011). Color and Shade Matching in Dentistry. *Trends Biomater. Artif. Organs*, 25(4), 172–175.

Skyray Instruments Products. Absctec Co., LTD. (2010). EDXRF vs WDXRF. Última atualização em 2012.

Disponível em: <http://www.absotecthailand.com/EDXRF%20VS%20WDXRF.pdf>

Soares, D. G., Basso, F. G., Hebling, J., & de Souza Costa, C. A. S. (2014a). Concentrations of and application protocols for hydrogen peroxide bleaching gels: effects on pulp cell viability and whitening efficacy. *J Dent*, 42(2), 185–198.

Soares, D. G., Basso, F. G., Pontes, E. C. V, Garcia, L. D. F. R., Hebling, J., & de Souza Costa, C. A. (2014b). Effective tooth-bleaching protocols capable of reducing H₂O₂ diffusion through enamel and dentine. *J Dent*, 42(3), 351–8.

Soares, D. G., Ribeiro, A. P. D., Sacono, N. T., Loguércio, A. D., Hebling, J., & Costa, C. A. D. S. (2013). Mineral loss and morphological changes in dental enamel induced by a 16% carbamide peroxide bleaching gel. *Braz Dent J*, 24(5), 517–521.

Souza-Gabriel, A. E., Vitussi, L. O. C., Milani, C., Alfredo, E., Messias, D. C. F., & Silva-Sousa, Y. T. C. (2011). Effect of bleaching protocols with 38% hydrogen peroxide and post-bleaching times on dentin bond strength. *Braz Dent J*, 22(4), 317–321.

Sulieman, M. (2004). An Overview of Bleaching Techniques : I. History, Chemistry, Safety and Legal Aspects. *Dent Update*, 31: 608-616.

Sun, L., Liang, S., Sa, Y., Wang, Z., Ma, X., Jiang, T., & Wang, Y. (2011). Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent*, 39(10), 686–692.

Tanaka, R., Shibata, Y., Manabe, A., & Miyazaki, T. (2010). Micro-structural integrity of dental enamel subjected to two tooth whitening regimes. *Archives of Oral Biology*, 55(4), 300–308.

Tezel, H., Atalayin, C., Erturk, O., & Karasulu, E. (2011). Susceptibility of enamel treated with bleaching agents to mineral loss after cariogenic challenge. *International Journal of Dentistry*, Article ID 953835, 8 pages.

Thickett, E., & Cobourne, M. T. (2009). New developments in tooth whitening. The current status of external bleaching in orthodontics. *J Orthod*, 36(3), 194–201.

Thiesen, C. H., Filho, R. R., Prates, L. H. M., & Sartori, N. (2013). The influence of desensitizing dentifrices on pain induced by in-office bleaching. *Braz Oral Res* 27(6), 517–23.

Torres, C. R. G., Ribeiro, C. F., Bresciani, E., & Borges, a B. (2012). Influence of hydrogen peroxide bleaching gels on color, opacity, and fluorescence of composite resins. *Operative Dentistry*, 37(5), 526–531.

Torres, C. R. G., Souza, C. S., Borges, A. B., Huhtala, M. F. R. L., & Caneppele, T. M. F. (2013). Influence of concentration and activation on hydrogen peroxide diffusion through dental tissues in vitro. *The Scientific World Journal*, 2013, Article ID 193241, 5 pages.

Torres, C. R. G., Wiegand, A., Sener, B., & Attin, T. (2010). Influence of chemical activation of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on its penetration and efficacy--in vitro study. *J Dent* 38(10), 838–846.

Ubal dini, A. L. M., Baesso, M. L., Medina Neto., Sato, F., Bento, A. C., & Pascotto, R. C. (2013). Hydrogen peroxide diffusion dynamics in dental tissues. *J Dent Res*, 92(7), 661–665.

Universidade de Aveiro. Microscópia Eletrónica. Última actualização: 31.03.2003
Disponível em: <http://materiais.dbio.uevora.pt/jaraujo/biocel/metecnicas.htm>

Vieira, C., Silva-Sousa, Y. T. C., Pessarello, N. M., Rached-Junior, F. A. J., & Souza-Gabriel, A. E. (2012). Effect of high-concentrated bleaching agents on the bond strength at dentin/resin interface and flexural strength of dentin. *Braz Dentl J*, 23(1), 28–35.

Xu, B., Li, Q., & Wang, Y. (2011). Effects of pH values of hydrogen peroxide bleaching agents on enamel surface properties. *Operative Dentistry*, 36(5), 554–562.

Yahyazadehfar, M., Bajaj, D., & Arola, D. D. (2013). Hidden contributions of the enamel rods on the fracture resistance of human teeth. *Acta Biomater*, 9(1), 4806–4814.

Young, N., Fairley, P., Mohan, V., & Jumeaux, C. (2012). A study of hydrogen peroxide chemistry and photochemistry in tea stain solution with relevance to clinical tooth whitening. *J Dent*, 40 Suppl 2, e11–6.

Zhang, Y.-R., Du, W., Zhou, X.-D., & Yu, H.-Y. (2014). Review of research on the mechanical properties of the human tooth. *Int J Oral Sci*, (14), 1–9.

Zimmerli, B., Jeger, Franziska., & Lussi, A. (2010). Bleaching of Nonvital Teeth. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 120(4).