

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA**



**Branqueamento Dentário: ensaio *in vitro*
da cinética de libertação de peróxido de
hidrogénio de dois novos produtos**

Mariana Sofia Bitoque Soares de Albergaria

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

2012

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA**



**Branqueamento Dentário: ensaio *in vitro*
da cinética de libertação de peróxido de
hidrogénio de dois novos produtos**

**Mariana Sofia Bitoque Soares de Albergaria
Dissertação Orientada pelo Prof. Doutor António Mata**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

2012

Para os meus pais

“It takes courage to grow up and become who you really are”.

E. E. Cummings

Agradecimentos

Ao **Professor Doutor António Mata**, um sentido agradecimento pela confiança transmitida desde o início da minha vida académica e apoio facultado enquanto orientador. A sua mestria e rigor científico constituem uma referência incontornável na nossa área e edificam um exemplo profissional a seguir. Ao Professor agradeço, ainda, a oportunidade de ter podido integrar o Grupo de Investigação em Bioquímica e Biologia Oral (GIBBO). Este grupo, no qual me senti particularmente bem acolhida, permitiu-me conhecer a realidade da investigação experimental, com a qual não estava familiarizada, e que me proporcionou uma imensa satisfação em concretizar.

Ao **Dr. João Silveira**, pela total disponibilidade e amizade com que me acompanhou durante todo este ano. Os ensinamentos transmitidos e o seu incentivo permanente ao rigor e espírito crítico tiveram um contributo inestimável, tanto na produção desta tese, como na construção de uma consciência científica e profissional mais robusta.

Ao **Professor Doutor Duarte Marques**, pela *expertise* e conhecimentos científicos generosamente partilhados, que constituíram um património importante na minha aprendizagem desta técnica experimental.

Ao corpo docente do GIBBO, em especial à **Dr.^a Joana Marques** e ao **Dr. Nuno Guilherme**, que se mostraram constantemente solícitos e disponíveis no esclarecimento de dúvidas.

Aos colaboradores do GIBBO, particularmente ao **João Godinho** e ao **Miguel Oliveira**, pelas inúmeras horas gastas, jantares encomendados e fins de semana despendidos no laboratório, com infindável boa disposição e espírito de equipa. Entre pipetas e *falcons* ganhei dois amigos que se mostraram prestáveis em todos os momentos e aos quais deixo uma palavra especial de apreço.

À minha **família**, pelo assíduo acompanhamento da minha formação pessoal e académica. Foi um apoio sempre presente, particularmente nas alturas mais difíceis da minha vida.

Às minhas amigas da faculdade, em especial à **Inês Damas** e **Inês Vaz**, **Ana Rita Reis** e **Catarina Bernardes**, pelos laços criados e momentos enriquecedores de camaradagem, que tantas vezes permitiram descontraír e esquecer os dias menos bons.

Aos meus amigos mais “antigos”, nomeadamente o **Duarte**, o **Pachica**, a **Lena**, a **Cláudia**, o **Gonçalo**, a **Maria** e a **Vera**, pelas constantes demonstrações de afeto e carinho ao longo de todos estes anos. Vocês são a prova ao mais alto nível de que a canção que aprendemos em crianças está inteiramente correta: *Make new friends but keep the old; one is silver and the other's gold.*

À minha **Rita**, pela profunda amizade que nos liga. Foste um apoio permanente, sem o qual a minha vida nestes últimos anos não teria tido metade do seu brilho. A nossa Dupla, na qual a confiança absoluta e o espírito de entreajuda imperam, é e continuará a ser uma das conquistas que mais me orgulho.

À minha **mãe**, pelo seu enorme coração e dedicação incansável. Ao meu **pai**, pela sua força incomparável e exemplo de vida. Ao meu **irmão**, pelo companheirismo constante e estreita cumplicidade que nos une. Muito obrigada pelo apoio e amor incondicional que sempre me ofereceram, em grande parte responsáveis pela pessoa em que me tornei.

Quero ainda agradecer a todos os intervenientes que, por lapso, não tenha nomeado e que direta ou indiretamente tenham contribuído para a realização desta tese.

Resumo

Objetivos: (1) Determinar a quantidade de peróxido de hidrogénio (PH) presente em dois géis de branqueamento dentário e (2) avaliar a cinética de libertação de PH dos mesmos.

Materiais e métodos: Testaram-se dois produtos de branqueamento dentário, de utilização diurna em ambulatório. Dividiram-se as amostras em dois grupos: Grupo DW PH9,5% e Grupo DW PC38%, correspondendo aos produtos DayWhite ACP 9,5% e DayWhite ACP 38% (Discus Dental, USA). Determinou-se a concentração inicial de PH mediante titulação baseada no sulfato de cério IV. Para o estudo da cinética de libertação do PH, aplicaram-se as amostras de gel de acordo com as instruções do fabricante, até ao dobro do tempo indicado (n=13-20).

A quantidade de PH libertado foi determinada por um método colorimétrico previamente estabelecido baseado na peroxidase.

Os resultados são indicados como média \pm intervalo de confiança (IC) a 95% da percentagem de PH presente no gel (w/w) e da quantidade de PH libertada, expressa em mg de PH por 100 mg de produto ou como percentagem de PH libertado.

Os resultados foram analisados pelos testes correlação de Pearson entre as variáveis tempo e concentração de PH libertada, t-Student emparelhados ou ANOVA, conforme apropriado. Consideraram-se significativos valores para $P < 0,05$.

Resultados: As percentagens tituladas de PH foram superiores às indicadas pelo fabricante, com diferenças estatisticamente significativas nos dois casos ($P < 0,05$).

A cinética de libertação de PH foi semelhante nos dois produtos; no entanto, aos tempos estipulados pelo fabricante, o DW PH9,5% libertou aproximadamente 11,42mg enquanto o DW PC38% apresentava uma libertação de aproximadamente 6,17mg.

Conclusão: No tempo advogado pelo fabricante, o DW PH9,5% libertou todo o seu conteúdo em PH enquanto o DW PC38% não libertou a totalidade de PH presente. Serão necessários mais estudos de cinética de libertação de PH *in vivo* dos produtos testados.

Palavras-chave: branqueamento dentário, peróxido de hidrogénio, peróxido de carbamida, cinética de libertação.

Abstract

Objectives: (1) To determine the initial hydrogen peroxide (HP) content of two whitening products and (2) to assess the *in vitro* HP release kinetics of these products.

Materials and methods: Two external *at-home* bleaching products, for day use, were tested. The samples were divided into two groups: Group DW PH9,5% and Group DW PC38%, matching the products DayWhite ACP 9,5% and DayWhite ACP 38% (Discus Dental, USA). Each product was titrated for its HP content using a Cerium sulfate-based titration technique. To assess the *in vitro* HP release kinetics, the samples were applied according to the manufacturer's instructions and over twice the manufacturer's recommended application times (n=13- 20).

Using a previously described peroxidase-based colorimetric method, samples were analyzed, immediately after being collected.

The results are indicated as mean \pm 95% Confidence Interval for mean of the percentage of HP present in the whitening product (w/w) and as milligrams of HP and expressed as milligrams of HP per 100 milligrams of whitening product or the percentage of HP.

To test variables time, percentage and milligrams of HP release, Pearson correlation analysis was used, Paired Student t-test or ANOVA, as appropriate. A significance level of $P < 0,05$ was used for statistical comparisons.

Results: The bleaching products' titrated concentration values were higher than the ones claimed by manufacturer, with significant differences in both products ($P < 0,05$). The results show that these products reveal a similar release of HP. However, at respective recommend manufacturer's time, DW PH9,5% released about 11,42mg of HP, and DW PC38% released about 6,17mg of HP.

Conclusions: At the manufacturer's established application time, DW PH9,5% released all HP amount. Nevertheless, DW PC38% did not release the total amount of HP during the entire procedure. More studies of HP release kinetics *in vivo* for these two products are needed.

Key-words: tooth bleaching, hydrogen peroxide, carbamide peroxide, release kinetics.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vi
Índice	vii
Índice de ilustrações	ix
1. Introdução	1
1.1 Etiologia das pigmentações dentárias	1
1.2 Mecanismo de ação dos agentes branqueadores	2
1.3 Técnicas de branqueamento dentário	3
1.3.1 Branqueamento de dentes vitais	4
1.3.1.1 Branqueamento em ambulatório (ou <i>at-home</i>)	4
1.3.1.2 Branqueamento em consultório (ou <i>in-office</i>)	5
1.3.1.3 Branqueamento de venda livre (ou <i>over-the-counter</i>)	7
1.3.2 Branqueamento de dentes não vitais	8
1.4 Efeitos adversos do branqueamento dentário	9
1.4.1 Sensibilidade dentária	9
1.4.2 Irritação gengival	10
1.5 Efeitos do branqueamento nos tecidos dentários	10
1.5.1 Efeitos do branqueamento na superfície do esmalte e dentina	10
1.5.1.1 Alterações micromorfológicas	11
1.5.1.2 Efeitos na microdureza	12
1.5.1.3 Efeitos na microrugosidade	13
1.5.2 Efeitos do branqueamento sobre a polpa dentária	13
1.6 Efeitos do branqueamento nos materiais restauradores	14
1.7 Racionalização	16
2. Objetivos	18
3. Materiais e Métodos	18
3.1 Materiais	18
3.1.1 Reagentes	18
3.1.2 Agentes branqueadores	19
3.2 Tarefas a desenvolver	19
3.3 Métodos	20

3.3.1 Titulação de PH com Cério IV ($\text{CeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	20
3.3.2 Determinação <i>in vitro</i> da cinética do PH pelo método fotométrico	21
3.3.2.1 Preparação da solução de tampão fosfato a 0,05mol/L, pH=6,0	21
3.3.2.2. Preparação das amostras.....	21
3.3.2.3 Medição espectrofotométrica	22
3.3.2.4 Reta de calibração	22
3.3.3 Análise estatística dos resultados da cinética de liberação do PH.....	22
4. Resultados	23
5. Discussão	26
6. Conclusão	30
7. Referências bibliográficas	31

Índice de ilustrações

Figura 1. Titulação do DW PH9,5% com Cério IV.....	23
Figura 2. Titulação do DW PC38% com Cério IV.....	23
Figura 3a. Cinética de liberação de PH do DW PH9,5% para o meio aquoso, expresso em mg/100mg de produto aplicado.....	24
Figura 3b. Cinética de liberação de PH do DW PH9,5% para o meio aquoso, expresso em percentagem da concentração inicial titulada (w/w).....	24
Figura 4a. Cinética de liberação de PH do DW PC38% para o meio aquoso, expresso em mg/100mg de produto aplicado.....	24
Figura 4b. Cinética de liberação de PH do DW PC38% para o meio aquoso, expresso em percentagem da concentração inicial titulada (w/w).....	24
Figura 5. Percentagem de PH libertada em DW PH9,5% e DW PC38% em função da percentagem titulada ao tempo indicado pelo fabricante e ao dobro do tempo indicado pelo fabricante.....	25

1. Introdução

A estética corresponde a uma das principais preocupações da sociedade atual, estando intimamente relacionada com regras e padrões bem definidos (Mata *et al.*, 2009). Estas normas são-nos trazidas diariamente pelos meios de comunicação e afetam diretamente a nossa imagem corporal, enquanto construção multidimensional.

Particularmente na área da Medicina Dentária, o interesse público e a exigência da sociedade por procedimentos estéticos tem vindo a aumentar consideravelmente (Paravina *et al.*, 2007). Com efeito, a maioria dos pacientes encara um sorriso bonito, com dentes saudáveis, como a característica mais importante de um rosto atraente e a existência de dentes brancos é frequentemente associada a uma imagem de saúde (Matis *et al.*, 2009b). Assim, o desejo consensual de possuir dentes mais brancos conduziu a um desenvolvimento muito acentuado no que diz respeito às técnicas e materiais que apoiam este propósito (Wetter *et al.*, 2009).

Apesar da primeira referência ao branqueamento dentário remontar à Grécia Antiga, as descrições iniciais deste tratamento ocorreram na década de 1890. Contudo, o interesse público e profissional por este procedimento só se manifestou cerca de cem anos mais tarde, após a sua introdução formal por Haywood e Heymann em 1989 (Paravina *et al.*, 2007; Swift *et al.*, 1999; Haywood & Heyman, 1989).

O branqueamento dentário é o tratamento menos invasivo para dentes escurecidos, quando comparado com outras opções terapêuticas, nomeadamente a aplicação de resinas compostas, facetas de cerâmica e coroas, pois não requer qualquer redução da estrutura dentária (Cardoso *et al.*, 2010; Fugaro *et al.*, 2004). Sendo um tratamento considerado eficaz, duradouro e relativamente económico, este é provavelmente o procedimento estético contemporâneo mais popular (Paravina *et al.*, 2007).

1.1 Etiologia das pigmentações dentárias

As descolorações dentárias variam no que diz respeito à etiologia, aparência, localização, severidade e aderência à estrutura dentária. Estas podem ser categorizadas em intrínsecas e extrínsecas.

As manchas intrínsecas são causadas pela incorporação de material cromatogénico na dentina e esmalte, durante a odontogénese ou após a erupção, podendo resultar de uma multiplicidade de fatores que inclui traumatismos, uso de

antibióticos (nomeadamente tetraciclinas) e fluorose (Al Machot *et al.*, 2010). Após a erupção do dente, as causas mais comuns de descoloração intrínseca são o envelhecimento, a necrose pulpar e procedimentos iatrogénicos (Bizhang *et al.*, 2009). A pigmentação intrínseca relaciona-se ainda com as propriedades do esmalte e dentina na reflexão e dispersão da luz (Meireles *et al.*, 2008a).

A descoloração extrínseca está relacionada com a deposição de pigmentos no esmalte e na película adquirida (Zantner *et al.*, 2006). De um modo geral, as manchas extrínsecas estão associadas a compostos orgânicos de alto peso molecular, denominados cromóforos, estruturados a partir de cadeias complexas de carbono com ligações duplas (Gomes *et al.*, 2009). Pigmentos de café, chá, vinho tinto, cenoura, laranja e tabaco constituem alguns exemplos de causas da descoloração extrínseca do dente (Bizhang *et al.*, 2009).

Algumas pigmentações resultam ainda da combinação dos dois tipos de manchas (Zantner *et al.*, 2006).

Na remoção da maioria das manchas extrínsecas, a destartarização e o polimento profilático são os tratamentos mais comuns. Contudo, para remover descolorações intrínsecas ou extrínsecas mais difíceis, podem ser realizadas várias técnicas de branqueamento (Bizhang *et al.*, 2009; Benbachir *et al.*, 2008).

1.2 Mecanismo de ação dos agentes branqueadores

Apesar do aparecimento constante de novas formulações e outras inovações no mercado, está bem documentado que a eficácia do procedimento branqueador depende da concentração do produto, tempo de contacto com a substância ativa, natureza dos radicais livres libertados, taxa de liberação, da sua difusão através dos tecidos dentários e da capacidade de reação com as moléculas cromóforas (Matis *et al.*, 2009a; Gomes *et al.*, 2009).

Atualmente, os agentes branqueadores encontram-se frequentemente na forma de géis, contendo diversas concentrações de peróxido de carbamida (PC) ou peróxido de hidrogénio (PH), dependendo do meio de aplicação. Apresentam-se ainda combinados com outras substâncias, nomeadamente modificadores de consistência, estabilizadores, catalisadores, aromatizantes e agentes dessensibilizantes (Benbachir *et al.*, 2008). A adição de alguns agentes espessantes, tais como o carbopol e a glicerina, melhora a adesão do gel branqueador à superfície do esmalte, permitindo prolongar o tempo de contacto e liberação do princípio ativo (Cardoso *et al.*, 2010).

Efetivamente, o PH permite a remoção eficaz da pigmentação intrínseca, pelo que a maior parte dos agentes branqueadores contém PH, *per si* ou estabilizado sob a forma de PC.

As soluções de PC são instáveis e dissociam-se facilmente em contacto com os tecidos orais ou com a saliva (Auschill *et al.*, 2005). O PC ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$) a 10% decompõe-se em 3,4% de PH (H_2O_2) e 6,6% de ureia ($\text{Ca}[\text{NH}_2]_2$), a partir da qual se forma amónia (NH_3) e dióxido de carbono (CO_2) (Auschill *et al.*, 2005; Matis *et al.*, 2009b). O agente ativo (H_2O_2) deve estar em contacto com a superfície externa do esmalte durante um período adequado de tempo para desenvolver o seu potencial branqueador (Auschill *et al.*, 2005).

A capacidade do PH para branquear a cor dos dentes não é totalmente compreendida, embora se saiba que este se difunde através do esmalte e dentina de forma relativamente fácil, devido ao seu peso molecular.

A forma ativa deste composto decompõe-se em água (H_2O) e oxigénio (O_2), formando um radical livre intermediário, o hidroperóxido (HO_2), por um curto período de tempo. Designa-se por radical livre qualquer molécula que, devido à presença de um ou mais eletrões desemparelhados na última camada de valência, é altamente reativa. Os radicais livres são capazes de reagir com pigmentos ricos eletronicamente, situados no interior da estrutura dentária (Mata *et al.*, 2009; Kaya *et al.*, 2008). O seu elevado poder oxidativo permite a decomposição das macromoléculas que formam as pigmentações (Matis *et al.*, 2009b; Jones *et al.*, 1999). A teoria química que explica a ação de branqueamento do PH, a mais aceite atualmente, defende que os radicais livres libertados conseguem clivar os anéis de carbono das moléculas de pigmentação com alto peso molecular, através da destruição de uma ou mais ligações duplas, transformando as moléculas, inicialmente cíclicas, em moléculas lineares, mais simples de remover (Sasaki *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2009; Matis *et al.*, 2009b). Estas moléculas, por sua vez, condicionam uma maior reflexão da luz, pelo que, desta forma, o dente é percecionado como sendo mais claro. (Mata *et al.*, 2009; Matis *et al.*, 2009b; Gomes *et al.*, 2009).

1.3 Técnicas de branqueamento dentário

O branqueamento dentário abrange duas áreas principais, o branqueamento de dentes vitais e o branqueamento de dentes não vitais, que diferem ao nível do prognóstico, previsibilidade, estabilidade e recidiva. Estas são duas situações clínicas

distintas, que implicam uma abordagem terapêutica diferente, adequada à condição existente (Mata *et al.*, 2009).

1.3.1 Branqueamento de dentes vitais

Atualmente, a ampla gama de produtos branqueadores disponíveis para dentes vitais é classificada em três categorias: branqueamento em consultório (administrado profissionalmente), em ambulatório (dispensado profissionalmente) e de venda livre ao público (autoadministrado) (Kossatz *et al.*, 2011; Paravina *et al.*, 2007). Nestas categorias há diversas variáveis a considerar, nomeadamente o tipo de agente branqueador, a sua concentração e o tempo de aplicação (Bernardon *et al.*, 2010). As soluções branqueadoras são comercializadas a partir das várias apresentações e preparações galénicas disponíveis, aplicadas com ou sem ativação por dispositivos luminosos (Kossatz *et al.*, 2011).

1.3.1.1 Branqueamento em ambulatório (ou *at-home*)

O branqueamento em ambulatório é um método no qual o paciente preenche uma moldeira feita em consultório com o agente branqueador, que é utilizada durante várias horas por dia ou noite (Auschill *et al.*, 2005). Esta técnica envolve tipicamente uma concentração relativamente baixa de agente branqueador durante pelo menos duas semanas (Bizhang *et al.*, 2009).

O agente branqueador mais comumente utilizado é o gel de PC (10% a 20% de PC, equivalente a 3,35% a 7% de PH) devido à sua fácil aplicação, baixo custo, ampla aceitação por parte dos pacientes, baixa incidência de efeitos adversos e maior estabilidade do princípio ativo, quando comparado com o PH.

A técnica original de Haywood e Heymann envolvia a aplicação de um gel de PC a 10% numa moldeira individual (Cardoso *et al.*, 2010). Mais tarde, foram introduzidas alterações a esta técnica, nomeadamente diferentes concentrações de PC (10% a 22%), bem como de PH (5,5% a 7,5%), com o intuito de reduzir o tempo de tratamento. Assim, o protocolo clássico que envolve o contacto direto do agente branqueador com a superfície da estrutura dentária durante um extenso período de tempo (aproximadamente oito horas/dia durante seis semanas), foi substituído por protocolos mais rápidos, que exigem a utilização uma a oito horas diárias, durante uma a doze semanas contínuas, dependendo do nível de branqueamento desejado. Esta exposição reduzida é possível na medida em que a liberação do conteúdo do princípio

ativo dos géis dá-se quase na sua totalidade nas primeiras horas de aplicação, tal como sugerido por estudos *in vitro* prévios (Marques, 2008). Esta liberação foi demonstrada igualmente por Wattanapayungkul e colaboradores, que observaram uma taxa de degradação do agente branqueador substancialmente mais elevada nos cinco primeiros minutos de aplicação (Wattanapayungkul *et al.*, 1999).

Atualmente, após as várias alterações de que foi alvo, o branqueamento em ambulatório é considerado um método eficiente e seguro para branquear os dentes (Auschill *et al.*, 2005). Segundo Leonard e colaboradores, para dentes com pigmentação que não esteja relacionada com tetraciclinas, o *nightguard vital bleaching* é eficaz e estável em 95% dos casos, sendo que em 63% dos casos os resultados mantêm-se por um período superior a 3 anos (Leonard *et al.*, 1999; Leonard *et al.*, 1998).

Esta técnica é vantajosa, uma vez que requer menor tempo passado em consultório, sendo geralmente mais económica e produzindo níveis mínimos de sensibilidade. Contudo, as suas principais desvantagens incluem a necessidade de esperar mais tempo para obter os resultados desejados e a necessidade do paciente em manter uma *compliance* adequada durante todo o procedimento (Jones *et al.*, 1999). Assim, apesar do sistema branqueador em ambulatório ser o mais frequentemente recomendado para dentes vitais, alguns pacientes não se adaptam a esta técnica, pois preferem não utilizar moldeira ou simplesmente não querem esperar duas a três semanas para observar os resultados do seu tratamento. Como tal, estes podem exigir um método que produza resultados mais imediatos, o branqueamento em consultório (Marson *et al.*, 2008).

1.3.1.2 Branqueamento em consultório (ou *in-office*)

O branqueamento em consultório é já amplamente utilizado, sendo reportado como uma técnica fiável para um branqueamento rápido de dentes descolorados. Este produz uma alteração significativa na cor dentária, sem ser necessário estar no consultório muito tempo, pelo que se tem tornado muito popular (Zekonis *et al.*, 2003).

As principais vantagens desta técnica incluem o controlo total do procedimento pelo médico dentista, a prevenção da ingestão de material e de lesões químicas dos tecidos moles, tempo global de tratamento reduzido e maior potencial para resultados imediatos, o que pode aumentar a satisfação e motivação dos pacientes (Gurgan *et al.*, 2010).

O branqueamento *in-office* tem-se mostrado útil na remoção de manchas através da utilização de concentrações de PH por norma mais elevadas do que as utilizadas no regime em ambulatório (22% a 50%) (Mata *et al.*, 2009; Auschill *et al.*, 2005).

Vários artigos advogam ainda uma combinação do branqueamento em consultório e em ambulatório para potenciar o efeito branqueador e aumentar a estabilidade da cor. Este implica uma primeira sessão de branqueamento em consultório, seguida da utilização de um agente branqueador numa moldeira individual, que é usada até se obter a cor pretendida (Bernardon *et al.*, 2010).

Desde a introdução do branqueamento em consultório, a utilização de dispositivos luminosos (incluindo halogéneos, plasma, LED, LED com lasers e lasers) tem sido recomendada para promover um aumento súbito da temperatura do PH, acelerando a ação do gel branqueador (Gomes *et al.*, 2009; Marson *et al.*, 2008).

Atualmente são utilizadas diversas fontes luminosas para atingir esses propósitos, com várias potências e espectros de emissão (Gomes *et al.*, 2009). Existem já vários procedimentos branqueadores em consultório que utilizam lasers de árgon ou dióxido de carbono como fonte de luz e uma combinação de catalizador/PH, ativada pelo laser (Jones *et al.*, 1999). A ativação através da luz e calor é utilizada para acelerar e aumentar a taxa de decomposição do PH e para a formação de radicais livres, aumentando deste modo a eficácia do processo (Gurgan *et al.*, 2010; Jones *et al.*, 1999).

Contudo, existem algumas considerações importantes a ter em conta, nomeadamente no que diz respeito ao aumento da temperatura intrapulpar, devido à associação entre a ação do dispositivo luminoso e do agente branqueador, pois o aquecimento excessivo pode lesar irreversivelmente a polpa (Gomes *et al.*, 2009). É conhecido que o aumento de temperatura da câmara pulpar pode facilitar a difusão do peróxido para a polpa e causar inativação de diversas enzimas pulpares importantes para a manutenção de funções celulares fisiológicas (Kina *et al.*, 2010).

Apesar destes dispositivos luminosos terem sido introduzidos no procedimento branqueador com o propósito de acelerar o branqueamento, são escassos os estudos que comprovam a sua eficácia (Marson *et al.*, 2008). O efeito benéfico da utilização de dispositivos luminosos não é perceptível quando se utilizam concentrações elevadas de PH (35%), pois a quantidade de radicais livres produzida pela degradação química do PH é, *per si*, suficiente para reagir com os pigmentos incorporados na dentina, pelo que qualquer aumento nesta quantidade não irá acelerar a reação. Nesta situação, o fator limitante não é a quantidade de reagente, mas sim o tempo de reação.

Como tal, a utilização de uma fonte luminosa durante o procedimento branqueador em consultório com elevadas concentrações de PH deverá ser considerada opcional (Kossatz *et al.*, 2011).

Neste sentido, os investigadores têm vindo a desenvolver produtos que utilizam dispositivos luminosos com concentrações de PH substancialmente mais baixas em associação com outros componentes, nomeadamente dióxido de titânio (Suyama *et al.*, 2009).

O dióxido de titânio tem como benefícios a alta estabilidade química, não toxicidade e custo relativamente baixo. A sua principal desvantagem consiste na sua ativação através de dispositivos luminosos, que terá que ser exclusivamente na gama da radiação ultravioleta para propiciar a reação fotocatalítica, o que impede a sua aplicação na cavidade oral (Nosaka *et al.*, 2005).

Assim, a procura de meios para estender o espectro de absorção do dióxido de titânio à luz visível, sem causar uma redução na sua atividade fotocatalítica, tem constituído um desafio de grande interesse. Uma das alternativas a considerar envolve a utilização de dióxido de titânio nitrogenado.

Com efeito, o dióxido de titânio nitrogenado demonstra uma alteração significativa no limiar de absorção, sendo sensível a radiações menos energéticas na região da luz visível (Nosaka *et al.*, 2005).

O branqueamento com PH a 3,5% e dióxido de titânio nitrogenado apresenta um efeito branqueador significativo. Este é potenciado pela produção do radical hidroxilo através da ação catalítica do dióxido de titânio, mediante a irradiação com luz visível na gama do violeta/azul (Suemori *et al.*, 2008).

Vários estudos consideram que esta técnica é segura e fácil de utilizar. Adicionalmente, estes concluíram que o dispositivo luminoso mais adequado para esta técnica corresponde ao laser díodo com espectro de ação nos 405nm, embora outros indiquem a lâmpada de halogéneo de alta intensidade como uma alternativa eficaz. Há estudos que advogam ainda a utilização de dispositivos luminosos com comprimentos de onda que atinjam os 520nm (Suyama *et al.*, 2009; Suemori *et al.*, 2008).

1.3.1.3 Branqueamento de venda livre (ou *over-the-counter*)

O branqueamento de venda livre, modalidade com larga penetração no mercado dos EUA, compreende a utilização de PH com uma concentração de 5,3% a 5,6%, sendo vendida como cosmético (Auschill *et al.*, 2005). É um tratamento branqueador

não aprovado pela *American Dental Association* (ADA) (Jones *et al.*, 1999). De acordo com o Diário da República n.º 74, de 28 de março de 2001, a concentração máxima de PH (na 1ª parte do Anexo III, n.º 12, do Decreto-lei n.º 100/2001 de 28 de março relativo a Cosméticos) para a utilização destes produtos em Portugal é de 0,1% (Ministério da Saúde, 2001). Este valor está em concordância com o advogado pelo Council of European Dentists (Dentists, 2011).

Atualmente, há uma vasta gama de produtos branqueadores, incluindo géis, pincéis, dentífricos e bandas, disponíveis em farmácias, supermercados e pela Internet, que têm sido considerados métodos alternativos para branqueamento *at-home* (Meireles *et al.*, 2008b). Contudo, esta técnica é menos fiável, na medida em que o dentista não monitoriza a sua utilização. Além disso, a concentração de agente branqueador utilizada é substancialmente inferior, o que levanta algumas dúvidas quanto à sua eficácia clínica. É, portanto, necessária mais investigação acerca desta temática, já que a sua eficácia e efeitos secundários não foram ainda estudados adequadamente (Auschill *et al.*, 2005).

Dietschi e colaboradores verificaram que as técnicas de branqueamento em consultório e ambulatório apresentam um semelhante poder branqueador do esmalte, embora o branqueamento em ambulatório seja mais eficiente na remoção de manchas impregnadas na dentina. O mesmo estudo reportou que o efeito branqueador dos sistemas em consultório e em ambulatório foi mais consistente do que o obtido com produtos de venda livre (Dietschi *et al.*, 2006).

1.3.2 Branqueamento de dentes não vitais

Esta técnica envolve o tratamento de pigmentações intrínsecas em dentes não vitais, decorrentes da incorporação das mesmas na estrutura dentária antes, durante ou após a erupção (Mata *et al.*, 2009).

Atualmente, o branqueamento de dentes não vitais é uma técnica minimamente invasiva que, se executada corretamente, apresenta apenas riscos ligeiros (Zimmerli *et al.*, 2009).

A técnica mais utilizada consiste na *walking bleach technique*, na qual o médico dentista coloca o agente branqueador na câmara pulpar e restaura o dente provisoriamente. O procedimento é repetido a cada cinco ou oito dias, até se obter a estabilidade da cor (Mata *et al.*, 2009).

Os agentes utilizados são diversos, sendo os mais comuns o PH e a combinação de perborato de sódio com PH ou perborato de sódio com água (Suemori *et al.*, 2008).

De um modo geral, o branqueamento interno é uma alternativa estética a outros tratamentos menos conservadores, com o qual se obtém normalmente resultados satisfatórios. Contudo, a descoloração pode ocasionalmente recidivar, devido à difusão de substâncias cromatogénicas e de bactérias através das fendas marginais entre a obturação e o dente (Plotino *et al.*, 2008).

1.4 **Efeitos adversos do branqueamento dentário**

Todas as técnicas descritas apresentam benefícios e inconvenientes, cabendo ao médico dentista escolher a que melhor se adequa às necessidades do paciente (Auschill *et al.*, 2005).

A maioria das pessoas consegue tolerar facilmente o processo de branqueamento dentário (Browning *et al.*, 2007). Contudo, este pode afetar adversamente os tecidos mineralizados e não mineralizados da cavidade oral, embora os efeitos sejam ligeiros e transitórios se a técnica for executada adequadamente (Jorgensen & Carroll, 2002).

Os efeitos adversos mais comumente associados a estes agentes incluem a irritação pulpar, alterações na estrutura dentária, infiltração marginal das restaurações, reabsorção radicular externa e redução da força adesiva de resinas compostas (Nour El-din *et al.*, 2006).

Segundo Haywood e colaboradores, aproximadamente 52% dos pacientes sujeitos a tratamentos branqueadores reportaram sensibilidade dentária e 31% referiram irritação gengival (Browning *et al.*, 2008; Haywood *et al.*, 1994). Tais efeitos podem ocorrer precocemente no tratamento, embora desapareçam rapidamente e não retornem quando este é suspenso (Pohjola *et al.*, 2002).

1.4.1 **Sensibilidade dentária**

A sensibilidade dentária parece advir da fácil passagem do peróxido através do esmalte e dentina para a polpa e demora cerca de cinco a quinze minutos a ocorrer. Alguns estudos defendem que a sensibilidade resulta do dano provocado pelo peróxido ao nervo dentário, conduzindo a uma pulpíte reversível (Kossatz *et al.*, 2011).

Leonard e colaboradores investigaram os fatores que poderiam ser utilizados para prever a probabilidade de um indivíduo em particular experienciar sensibilidade

durante o branqueamento e concluíram que a sensibilidade prévia ao tratamento é um elemento importante de previsão (Leonard *et al.*, 1997).

Para controlo dos efeitos adversos decorrentes do branqueamento, este procedimento é realizado sem recorrer à utilização de qualquer anestésico. O paciente deve suspender o processo se experienciar mais do que sensibilidade moderada (Matis *et al.*, 2007).

1.4.2 Irritação gengival

A irritação gengival causada por agentes branqueadores é também amplamente reportada. Esta está frequentemente relacionada com a forma da moldeira ou aplicação indevida dos agentes branqueadores (Jorgensen & Carroll, 2002). Contudo, a irritação gengival pode ser prevenida, desde que o agente branqueador tenha um contacto mínimo com os tecidos moles, o que pode ser assegurado em consultório, mediante a utilização do dique ou protetor gengival e em ambulatório, através o uso da moldeira bem adaptada (Auschill *et al.*, 2005; Jorgensen & Carroll, 2002).

Na presença de irritação gengival já instalada, o ajuste da moldeira ou modificação da técnica de aplicação do agente geralmente eliminam este efeito (Jorgensen & Carroll, 2002).

1.5 Efeitos do branqueamento nos tecidos dentários

A eficácia do branqueamento dentário tem sido validada por numerosos estudos *in vitro* e *in vivo*. Contudo, uma das principais preocupações aquando a aplicação destes procedimentos reside no potencial enfraquecimento da estrutura do esmalte causada pelos agentes branqueadores (Sun *et al.*, 2011).

É bastante controverso se o branqueamento resulta em lesões permanentes ou temporárias do esmalte ou dentina. Outra questão que ainda não foi completamente esclarecida é se o PH, mesmo em baixas concentrações, causa dano à polpa (Pugh *et al.*, 2005).

1.5.1 Efeitos do branqueamento na superfície do esmalte e dentina

Segundo Attin e colaboradores, o branqueamento dentário é uma prática segura no que diz respeito a potenciais riscos de alteração da estrutura dentária mineralizada, o que se reflete na literatura mediante a ausência de danos visíveis macroscopicamente ou clinicamente (Attin *et al.*, 2004).

No entanto, existem numerosos estudos que exibem alterações microestruturais dos tecidos dentários mineralizados induzidas pelos agentes branqueadores, especialmente quando o peróxido é aplicado em elevadas concentrações. As mais comuns incluem a alteração dos aspetos histológicos e da composição do esmalte (Dahl & Pallesen, 2003).

1.5.1.1 Alterações micromorfológicas

As variações na micromorfologia superficial podem ser observadas através de análise ao microscópio eletrónico de varrimento (MEV) (Sasaki *et al.*, 2009).

Perdigão e colaboradores observaram no seu estudo ultramorfológico que o procedimento branqueador resulta numa diminuição significativa nas concentrações relativas de cálcio e fósforo no esmalte. Reportaram igualmente alterações morfológicas no esmalte aprismático superficial (Perdigão *et al.*, 1998).

No estudo de Sasaki e colaboradores, as análises ao MEV mostraram alterações no esmalte, designadamente a presença de erosões que podem ser justificadas pela extensão de tempo de contacto entre o agente e a estrutura dentária (Sasaki *et al.*, 2009).

A presença de erosões e porosidades no esmalte tem sido relacionada com a presença de subprodutos, sobretudo ureia e oxigénio, da reação de oxidação dos agentes branqueadores. A ureia tem a propriedade de desnaturar proteínas presentes na porção orgânica da estrutura dentária, com o potencial de penetrar através do esmalte e afetar não só a superfície, mas também a porção interprismática do esmalte. Como tal, a penetração da ureia pode contribuir para o aumento da permeabilidade do esmalte e alterações microestruturais.

Adicionalmente, Hegedus e colaboradores verificaram que a liberação de oxigénio a partir da decomposição do PC é também suscetível de aumentar a porosidade da dentina (Hegedus *et al.*, 1999).

Outra característica dos agentes branqueadores que pode influenciar a morfologia superficial dos tecidos dentários é o seu caráter ácido. Os produtos de branqueamento dentário apresentam geralmente um pH inferior a sete, para assegurar a estabilidade do PH (Weiger *et al.*, 1993). Vários autores observaram um pH mais ácido em agentes que apresentam concentrações mais elevadas de PH.

Segundo Price e colaboradores, um dos efeitos adversos decorrentes da exposição dos dentes e tecidos orais a um pH baixo por um período extenso de tempo

(como o advogado em alguns produtos) consiste na desmineralização superficial do esmalte (Price *et al.*, 2000)

No entanto, Chng e colaboradores, de forma pouco objetiva, descrevem estes efeitos como sendo mínimos e não relevantes, desde que o agente branqueador seja aplicado sensatamente e de acordo com as instruções do fabricante (Chng *et al.*, 2002).

Existe alguma controvérsia quanto à concentração de PH e ao tempo de exposição que podem provocar alterações substanciais no esmalte (Gomes *et al.*, 2009). De acordo com Sasaki e colaboradores, a micromorfologia da superfície do esmalte pode ficar comprometida com a utilização de PC a 10% ou PH a 7,5%. Contudo, estas alterações não são clinicamente perceptíveis e é difícil determinar se são reversíveis microscopicamente (Sasaki *et al.*, 2009). Outros estudos revelam que produtos com concentrações de 3,35% a 15% de PH provocam dano no esmalte, sendo este maior quanto maior o tempo de tratamento (Grobler *et al.*, 2010)

No que diz respeito à modalidade de branqueamento utilizada, Faraoni-Romano e colaboradores advogam que as técnicas *in-office* e *at-home* podem ambas provocar alterações químicas e morfológicas no esmalte e dentina, contudo estas são mais evidentes quando são utilizados agentes branqueadores *in-office* (Faraoni-Romano *et al.*, 2008).

1.5.1.2 Efeitos na microdureza

Os resultados descritos na literatura têm sido contraditórios quanto a esta temática. Enquanto alguns estudos demonstram uma redução na microdureza do esmalte e dentina após branqueamento *at-home*, outros não observaram quaisquer efeitos adversos significativos (Faraoni-Romano *et al.*, 2008). Com efeito, diversos autores obtiveram diferenças significativas nos valores de microdureza do esmalte e dentina após branqueamento com 10% de PC, mesmo na presença de saliva, fluoretos ou outras soluções remineralizadoras, capazes de manter o equilíbrio entre os processos de desmineralização e remineralização. No entanto, Sasaki e colaboradores não observaram alterações na microdureza da superfície do esmalte em indivíduos sujeitos a um curto período de exposição a agentes *at-home* (Sasaki *et al.*, 2009).

No que diz respeito ao branqueamento *in-office*, existe igualmente controvérsia, na medida em que há estudos que reportam um decréscimo na microdureza do esmalte e dentina, enquanto outras investigações observaram essa redução exclusivamente ao nível do esmalte (Faraoni-Romano *et al.*, 2008). No estudo realizado por Gomes e

colaboradores não se observaram quaisquer alterações na microdureza do esmalte durante o branqueamento *in-office*, independentemente da utilização de dispositivos luminosos (Gomes *et al.*, 2009).

1.5.1.3 Efeitos na microrugosidade

À semelhança da secção anterior, os resultados dos estudos são contraditórios e pouco conclusivos. Zalkind e colaboradores observaram alterações na superfície do esmalte, bem como uma aparência rugosa na dentina após a aplicação das técnicas de branqueamento *at-home* e *in-office* (Zalkind *et al.*, 1996).

Contudo, outros estudos reportaram que nenhuma das duas técnicas referidas alterava a textura superficial do esmalte e que o branqueamento *at-home* não aumentava a rugosidade da dentina (Faraoni-Romano *et al.*, 2008).

1.5.2 Efeitos do branqueamento sobre a polpa dentária

A informação acerca dos efeitos do PH e/ou PC nos tecidos dentários pulpares é escassa. Como tal, existe uma grande controvérsia relativamente à segurança do procedimento branqueador, apesar de alguns produtos terem sido aceites pela ADA como sendo seguros e eficazes (Fugaro *et al.*, 2004).

A maioria dos estudos laboratoriais demonstrou que a capacidade de difusão dos agentes branqueadores através dos tecidos dentários até atingir a câmara pulpar é diretamente proporcional à concentração de PH e ao tempo de contacto do produto com o esmalte. Quanto maior a concentração de PH, mais profundas são as microporosidades criadas pelo agente no esmalte, o que favorece a difusão do peróxido e os seus subprodutos através da câmara pulpar (Kina *et al.*, 2010).

É geralmente aceite que a observação histológica dos tecidos pulpares constitui o método mais fiável para avaliar as reações pulpares aos procedimentos clínicos (Fugaro *et al.*, 2004). A avaliação da resposta pulpar após se proceder a um tratamento branqueador é importante na medida em que os componentes libertados pelos agentes branqueadores são capazes de se difundir através dos tecidos dentários mineralizados até à câmara pulpar, causando possivelmente efeitos citotóxicos permanentes. O PH e os radicais livres que se originam da sua degradação, nomeadamente iões hidroxilo e espécies de oxigénio reativas, podem iniciar a cadeia de oxidação dos fosfolípidos presentes nas membranas citoplasmática e lisossómicas das células (peroxidação

lipídica), com consequente perda das enzimas destrutivas e lesão das células pulpares, que pode variar desde stress oxidativo até à morte.

Devido ao stress oxidativo gerado pela presença de radicais livres, o sistema de defesa das células pulpares pode ser ativado, libertando diversos agentes antioxidantes endógenos, tais como as enzimas superóxido dismutase e catalase, que podem promover a degradação enzimática do PH e proteger as células pulpares dos efeitos citotóxicos do agente branqueador e evitar a lesão tecidual excessiva (Kina *et al.*, 2010).

Seale e colaboradores investigaram os efeitos sobre a polpa dentária de cães da aplicação de PH a 35%, com e sem a utilização conjunta de calor durante trinta minutos. Os principais efeitos histológicos observados consistiram na obliteração da camada odontoblástica e presença de reabsorção interna e infiltrado inflamatório denso (Seale *et al.*, 1981).

No entanto, segundo Kina e colaboradores, não é legítima a extrapolação de resultados obtidos em estudos animais para humanos, uma vez que as características dentárias variam muito consoante as diferentes espécies. Entre as principais diferenças incluem-se a espessura e as características estruturais dos tecidos mineralizados, nomeadamente o grau de mineralização, bem como o número e diâmetro dos túbulos dentinários, que podem influenciar a difusão dos agentes através do esmalte e dentina e, consequentemente, afetar a resposta inflamatória pulpar (Kina *et al.*, 2010).

Alguns estudos observaram a inibição das enzimas pulpares, independentemente da presença de calor (Pugh *et al.*, 2005). No entanto, Kina e colaboradores, num estudo *in vivo* de 2010, branquearam dentes com PH a 38% associado ou não a ativação luminosa e observaram a preservação das características histológicas normais da polpa nos dois grupos, na maioria dos casos (Kina *et al.*, 2010).

1.6 Efeitos do branqueamento nos materiais restauradores

Adicionalmente aos aspetos relacionados com a influência dos agentes branqueadores nos tecidos dentários mineralizados, alguns clínicos demonstram preocupação acerca do efeito destes agentes nos materiais dentários restauradores (Swift & Perdigão, 1998).

Existe alguma controvérsia no que diz respeito aos efeitos dos produtos de branqueamento dentário na superfície dos materiais restauradores, nomeadamente no quanto à rugosidade. O estudo de Moraes e colaboradores observou um aumento significativo na rugosidade superficial de cerâmicas expostas a PC 10% e 35%, após

vinte e um dias de exposição. Estes investigadores reportaram igualmente um aumento significativo da rugosidade superficial de resinas compostas expostas a PC 35%, ainda que tais dados estejam em contradição com os obtidos por outros estudos existentes na literatura (Moraes *et al.*, 2006). A análise microscópica à superfície de amostras em resina composta realizada por Marto e colaboradores, revelou um aumento na porosidade superficial e a existência de múltiplas microfissuras. No que respeita ao efeito do branqueamento sobre a amálgama dentária, estes investigadores observaram diferenças relevantes entre o grupo exposto a PC 10% e o grupo de controlo, nomeadamente alterações micromorfológicas da superfície do esmalte, com poros e fissuras dispersos pela mesma (Marto *et al.*, 2012).

Por outro lado, a comunidade científica tem tentado compreender se os procedimentos branqueadores afetarão a adaptação marginal dos materiais restauradores à estrutura dentária (Attin *et al.*, 2004).

Nesse sentido, estudos têm demonstrado que os branqueamentos pré e pós-operatório não exercem efeitos negativos na adaptação marginal de restaurações em amálgama (Ulukapi *et al.*, 2003). Contudo, diversas investigações observaram uma redução na força adesiva de resinas compostas ao esmalte, quando o procedimento adesivo é realizado imediatamente ou até uma semana após uma terapia branqueadora com PH ou PC.

Um dos mecanismos propostos na literatura que pode ser responsável por esta diminuição é a presença de oxigénio residual. Vários autores defendem que o oxigénio do PH difunde-se pelo esmalte e dentina e acumula-se na estrutura do esmalte, causando a inibição da polimerização da resina composta, o que afeta a força adesiva da resina ao esmalte, embora esta teoria não tenha sido ainda comprovada (Nour El-din *et al.*, 2006).

De acordo com Titley e colaboradores, a dentina e o fluido dentinário podem agir como um reservatório de peróxido e oxigénio. Estes reservatórios podem persistir até serem removidos pela microcirculação pulpar e difusão da superfície externa (Titley *et al.*, 1993).

Torneck e colaboradores comprovaram que há uma diminuição significativa na força adesiva de resinas compostas quando o esmalte é exposto a PH, contudo esta redução é transitória (Torneck *et al.*, 1990).

A larga maioria dos estudos que utilizou PH com concentrações entre 25% e 35% comprovou uma redução significativa simultaneamente na resistência ao cisalhamento e à tração para todos os materiais restauradores compostos testados,

quando a aplicação do compósito (e sistema adesivo) foi feita imediatamente após o tratamento branqueador (menos de vinte e quatro horas depois da conclusão do branqueamento) (Attin *et al.*, 2004).

Tal verificou-se independentemente do tempo de aplicação (cinco, trinta ou sessenta minutos, respetivamente) da solução de PH a 30% durante o procedimento branqueador. Esta redução na resistência ao cisalhamento foi relevante até decorrer um período de sete dias após o procedimento branqueador.

Vários estudos investigaram qual o período de tempo apropriado entre o branqueamento com PH a 25%-35% e a aplicação adesiva de compósitos e reportaram que um desfasamento de uma semana não é suficiente para permitir uma adesão ótima, apesar da liberação de PH a 35% estar praticamente completa em sete dias após aplicação. Vyver e colaboradores reportaram que a força adesiva ao esmalte retomava os valores iniciais quando o compósito era aplicado nas amostras duas semanas após o branqueamento (Vyver *et al.*, 1997). Outros estudos desenvolvidos por Nour El-din e colaboradores verificaram ser necessário um período superior a três semanas antes da força adesiva entre resina e esmalte retomar os valores obtidos com esmalte não branqueado (Nour El-din *et al.*, 2006).

O efeito dos géis de PC na força adesiva do compósito ao esmalte branqueado parece depender do sistema adesivo utilizado (Attin *et al.*, 2004). Adicionalmente, a maioria dos estudos que investigou a influência dos géis de PC na adesão ao esmalte revelou uma redução na força adesiva do compósito ao esmalte branqueado, quando comparado com esmalte não submetido a tratamentos branqueadores. As recomendações existentes para a aplicação de compósito em esmalte branqueado com PC variam entre um dia a três semanas (Cavalli *et al.*, 2001).

1.7 **Racionalização**

Tal como foi referido, o branqueamento *at-home* é geralmente mais aceite pelos pacientes e profissionais, em comparação com o método *in-office* (Martin *et al.*, 2007).

Para a concretização desta modalidade, existe uma ampla gama de produtos branqueadores disponível, com apresentações e preparações galénicas diferentes. Contudo, a escolha do gel branqueador deve ser cuidadosa e ponderada. É importante verificar se o conteúdo dos produtos coincide com as indicações facultadas pelo fabricante, nomeadamente quanto ao tempo de armazenamento e controlo de qualidade.

Adicionalmente, os fabricantes referem que as concentrações de PH indicadas frequentemente não correspondem às concentrações reais precisas (Matis *et al.*, 2003). Nesse sentido, este estudo tem como primeiro objetivo a determinação das percentagens iniciais de PH contidas nos dois produtos testados e a sua comparação com as percentagens indicadas pelos fabricantes.

Outro parâmetro essencial a ter em conta no momento de seleção do agente branqueador a utilizar é o tempo de aplicação do mesmo. Com efeito, o marketing exagerado que se observa na área da estética dentária, onde existe uma tentativa por parte dos fabricantes em oferecer agentes com posologias que se destaquem dos demais produtos existentes para o mesmo propósito, leva a que se observe com alguma frequência a indicação de tempos de aplicação completamente diferentes para produtos com formulações muito semelhantes. Desta forma, deve ser encorajada a produção de estudos independentes que avaliem os comportamentos observados nas diferentes preparações galénicas e a sua real eficácia clínica.

Os produtos escolhidos para este estudo foram introduzidos recentemente no mercado, pelo que ainda são escassos os estudos que os avaliam. Como tal, tendo em conta o sucesso público que têm apresentado, torna-se necessária a realização de, numa primeira fase, estudos laboratoriais que averiguem a harmonização do comportamento *in vitro* dos produtos às indicações do fabricante e, numa segunda fase, de ensaios clínicos que façam aferição da adequação *in vivo* dos tempos de aplicação recomendados. Neste estudo concentrámo-nos na primeira fase, e procurámos realizar uma investigação que contemplasse o estudo da cinética de liberação de PH para o meio aquoso dos dois produtos selecionados, com o intuito de verificar se o seu comportamento *in vitro* é consonante com as indicações do fabricante, nomeadamente quanto ao tempo de aplicação.

2. Objetivos

Os objetivos deste protocolo experimental incluem:

- Determinação da quantidade de PH de dois produtos de branqueamento;
- Avaliação da cinética de libertação de PH dos dois produtos em meio aquoso.

Hipótese nula 1: A concentração de princípio ativo contida nos dois produtos em teste não é diferente da concentração indicada pelo fabricante.

Hipótese nula 2: No tempo de aplicação anunciado pelo fabricante, os dois produtos em teste não libertam a totalidade do seu conteúdo em PH.

3. Materiais e Métodos

3.1 Materiais

3.1.1 Reagentes

- 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS); CAS #30931-67-0, produto número 11557, foi adquirido da Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha.
- Peroxidase de rábano CAS #9003-99-0, produto nº 77333, foi adquirida da Fluka, Suíça.
- Dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4) foi adquirido da Pancreac Química AS, Barcelona, Espanha.
- Di-Sódio hidrogénio-fosfato anidro (Na_2HPO_4) foi adquirido da Merck, Darmstadt, Alemanha.
- Solução de peróxido de hidrogénio 3% (PH) foi adquirida da Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha.
- Solução indicadora de ferroína; CAS # 14634-91-4, produto nº 34531, foi adquirida da Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha.
- Sulfato de cério IV (tetra hidratado), p.A., $M=404.30\text{g/mol}$ CAS #14634-91-4, produto nº 31606, foi adquirido da Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha.
- Ácido sulfúrico p.A. (95,6%) CAS #231-639-5, produto nº 1.00731, foi adquirido da Merck, Darmstadt, Alemanha.

3.1.2 Agentes branqueadores

Quadro 1 – Características dos agentes branqueadores testados

Agente Branqueador	Fabricante	Lote	Grupos	Princípio Ativo	% Princípio Ativo	%PH titulado
DayWhite ACP 9,5%	Discus Dental LLC, Culver City, USA	1119 2060	DW PH9,5%	PH	9,5%	9,947%
DayWhite ACP 38%	Discus Dental LLC, Culver City, USA	1103 1103	DW PC38%	PC	38%	14,221%

Quadro 2 – Características dos agentes branqueadores testados (continuação)

Agente Branqueador	Concentração PH fabricante	Outros compostos ativos	Formulação galénica	Regime de aplicação	Tempo de aplicação
DayWhite ACP 9,5%	9,5%	Nitrato de potássio Fluoretos Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	Gel em moldeira adaptável	Ambulatório	2x30min/dia 2 semanas
DayWhite ACP 38%	13,756%	Nitrato de potássio Fluoretos Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	Gel em moldeira adaptável	Ambulatório	2x15min/dia 2 semanas

3.2 Tarefas a desenvolver

Tarefa 1

Determinar a percentagem inicial de PH contida nos dois produtos em teste:

Amostras: DW PH9,5% e DW PC38%

Variáveis de desfecho:

- Concentração de PH presente nos lotes testados dos dois produtos, expressa em percentagem (w/w)
- Quantidade de PH (em mg) presente por 100mg de gel

Modelo Experimental: Titulação de PH com Cério IV (Jeffery *et al.*, 1989; Skoog, West *et al.* 1992).

Tarefa 2

Determinar a cinética de liberação de PH em meio aquoso dos dois produtos em teste:

Amostras: DW PH9,5% e DW PC38%

Variáveis de desfecho: Quantidade de PH libertada para o meio aquoso, expressa em percentagem da concentração titulada e por 100mg de gel

Modelo Experimental: Cinética de liberação de PH em meio aquoso pelo método colorimétrico baseado em peroxidase (Marques, 2008, adaptado de Childs & Bardsley, 1975).

3.3 Métodos

3.3.1 Titulação de PH com Cério IV ($CeSO_4 \cdot 4H_2O$)

Este protocolo tem como objetivo determinar a percentagem inicial de PH existente nos produtos testados.

Pesaram-se cerca de 500mg de gel numa balança analítica com +/- 0,001g de sensibilidade (ABJ, Kern, Balingen-Frommern, Alemanha) num gobelé de 500ml e registou-se o peso exato. Seguidamente, adicionaram-se 225ml de água desionizada, colocou-se o conjunto no agitador magnético e esperou-se a dissolução completa do gel.

Após a adição e dissolução de 25ml de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) diluída 1:5, juntaram-se, sob agitação, 10 gotas (cerca de 5ml) de solução indicadora de ferroína, o que levou à alteração de cor da solução, de transparente para laranja escuro.

Cada amostra foi titulada com uma solução-padrão de sulfato de cério IV 0,1M até ao ponto de equivalência, a partir do qual a solução tomou a cor azul clara. Nessa altura, procedeu-se ao registo do volume despendido e calculou-se a percentagem de PH da amostra, a partir da seguinte fórmula:

$$\%H_2O_2 (w/w) = \frac{VCeSO_4 \cdot 4H_2O (ml) * 0,17}{m amostra (g)}$$

% H_2O_2 (w/w): Concentração de PH expressa em % (w/w).

$VCeSO_4 \cdot 4H_2O$ (ml): Volume da solução de sulfato de cério IV 0,1M utilizada para a titulação da amostra até ao ponto de equivalência, expresso em mililitros (ml).

m amostra (g): massa da amostra, expressa em gramas (g).

Para o DW PC38%, foi ainda necessário proceder à conversão, utilizando a seguinte fórmula (Matis *et al.*, 1999):

$$\% PC (w/w) = \% H_2O_2 / 0.362$$

Segundo Marques, a concentração inicial de cada lote deve ser analisada até se obter um mínimo de três réplicas num intervalo de variabilidade 0,5% (Marques, 2008). Neste estudo, repetiu-se o procedimento seis vezes para cada produto.

3.3.2 Determinação *in vitro* da cinética do PH pelo método fotométrico

3.3.2.1 Preparação da solução de tampão fosfato a 0,05mol/L, pH=6,0

A preparação da solução de tampão fosfato (Solução C) envolve a realização preliminar de duas soluções tampões:

- Solução de KH_2PO_4 a 0,05mol/L (Solução A);
- Solução de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 0,5mol/L (Solução B).

A preparação da solução A envolveu a pesagem e adição de 13,55g de KH_2PO_4 a um volume de 2L de água desionizada num balão volumétrico, que foi posteriormente agitado até à homogeneização da solução.

A solução B foi preparada mediante a adição de 2,225g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 250ml de água desionizada num balão volumétrico e a sua agitação até a solução ficar homogénea.

A preparação da solução C implicou a incorporação de 1758ml da solução A e 242ml da solução B, para perfazer um volume final de 2,0L. Procedeu-se ainda à análise do pH da solução com recurso a um potenciómetro (pH Meter Basic 20, Crison, Alella, Espanha) e ajuste do mesmo quando tal se justificou (o pH aceitável para esta solução situava-se no valor 6 +/- 0,02).

A solução C foi utilizada para a preparação das soluções de ABTS a 2,08mM e de peroxidase de rábano a 400 U/ml.

3.3.2.2. Preparação das amostras

Pesaram-se cerca de 500mg de gel branqueador numa caixa de Petri (Normax, Portugal) com 60mm de diâmetro numa balança analítica com +/- 0,0001g de sensibilidade (AB54, Mettler Toledo, Suíça). Homogeneizou-se o mesmo por toda a superfície da caixa, recorrendo a uma espátula, e registou-se o peso final. Adicionaram-se 10ml de água desionizada e colocou-se a amostra na placa de agitação (50rpm).

Seguidamente, nos tempos estipulados (minutos 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 60), foram retirados 100µl da amostra com uma micropipeta p100 (Socorex, Suíça), para serem analisados e substituídos pela mesma quantidade de água desionizada.

3.3.2.3 Medição espectrofotométrica

Envolveu a medição do conteúdo em PH de cada amostra recolhida, através de uma adaptação do método colorimétrico baseado em peroxidase de Childs e Bardsley (Marques, 2008).

Recorrendo a uma micropipeta p100 (Gilson, França), colocaram-se 30µl de cada amostra recolhida em microcuvettes (Bergamasco, Itália), às quais se adicionaram igualmente 1,44ml de solução de ABTS e 30µl de solução de peroxidase de rábano. Após agitação das microcuvettes, o seu conteúdo em PH foi analisado num espectrofotómetro (M501 Single Beam UV/Vis Spectrophotometer, Camspec, Cambridge, Reino Unido), com comprimento de onda de 420nm.

3.3.2.4 Reta de calibração

Foi efetuada a calibração do aparelho recorrendo a uma reta de calibração, representando nove concentrações conhecidas. De cada solução de concentração conhecida, foi retirada uma amostra de 30µl e adicionada a uma microcuvette contendo 30µl de peroxidase e 1,44ml de solução de ABTS. Os pontos de calibração apresentados representam as seguintes concentrações: 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1500, 2000 µM de PH. Apenas foram aceites como válidas retas de calibração para $r > 0,95$.

3.3.3 Análise estatística dos resultados da cinética de libertação do PH

Para determinação dos resultados e da análise recorreu-se a um *software* de análise estatística adequado (SPSS v.20, SPSS Inc, Chicago, IL USA).

Os resultados são indicados como média e intervalo de confiança (IC) de $\pm 95\%$ da percentagem de PH libertada e as diferenças relativas às médias dos valores titulados analisadas pelo teste de t-Student, para o qual apenas foram considerados significativos valores para $P < 0,05$.

4. Resultados

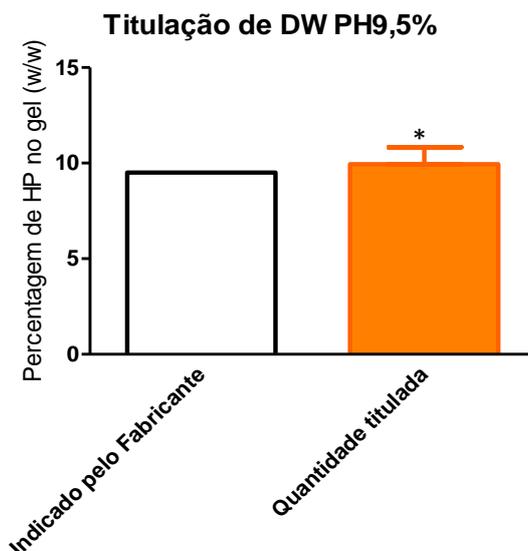


Figura 1 - Resultados obtidos na titulação do conteúdo em PH do gel de branqueamento grupo DW PH9,5%. Os valores indicados correspondem à média (9,947) \pm IC a 95%]9,94;10,83[, n=6. O lote testado (11192060) apresenta uma quantidade de PH diferente da anunciada pelo fabricante, sendo esta diferença estatisticamente significativa (P<0,05).

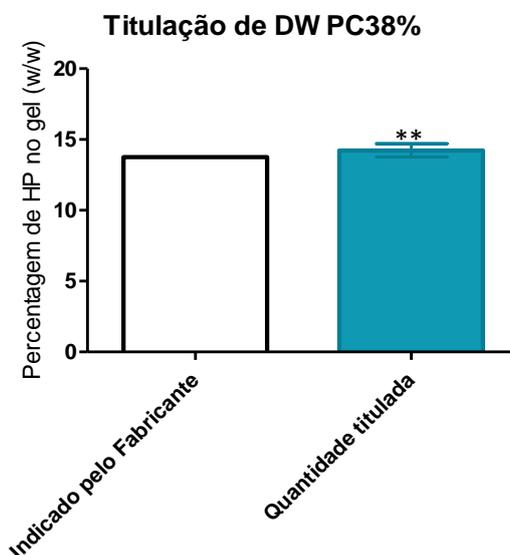


Figura 2 - Resultados obtidos na titulação do conteúdo em PH do gel de branqueamento DW PC38%. Os valores indicados correspondem à média (14,221) \pm IC a 95%]13,78;14,71[, n=6. O lote testado (11031103) apresenta uma quantidade de PH diferente da anunciada pelo fabricante, sendo esta diferença estatisticamente muito significativa (P<0,001).

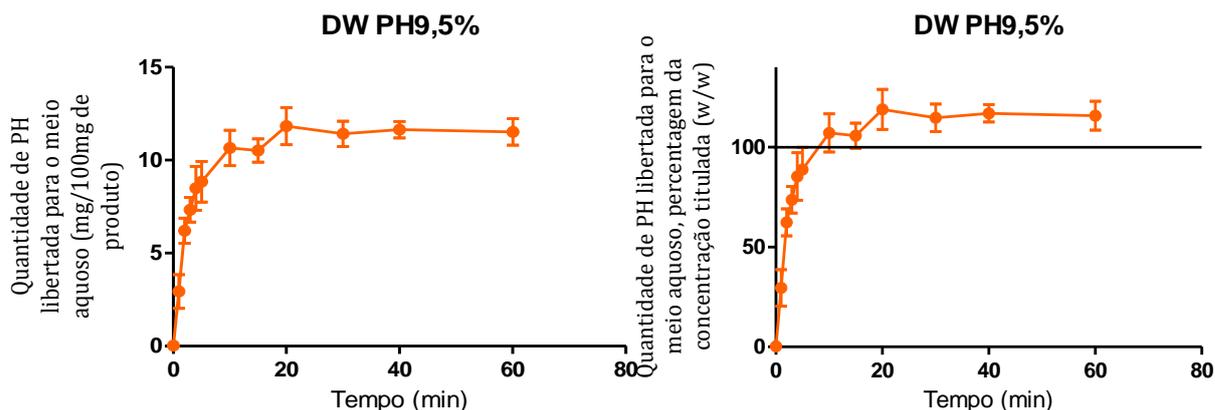


Figura 3a – Resultados da cinética de libertação de PH do grupo DW PH9,5% para o meio aquoso, expresso em mg/100mg de produto aplicado. **Figura 3b** – Resultados da cinética de libertação de PH do grupo DW PH9,5% para o meio aquoso, expressos em da percentagem da concentração titulada (w/w). Observa-se a libertação de metade do seu conteúdo ao fim de apenas 2 minutos e a partir dos 15 minutos (metade do tempo de aplicação indicado pelo fabricante), o produto de branqueamento já libertou a totalidade do seu conteúdo de PH. Os resultados são apresentados como média \pm IC a 95%, n=13-20.

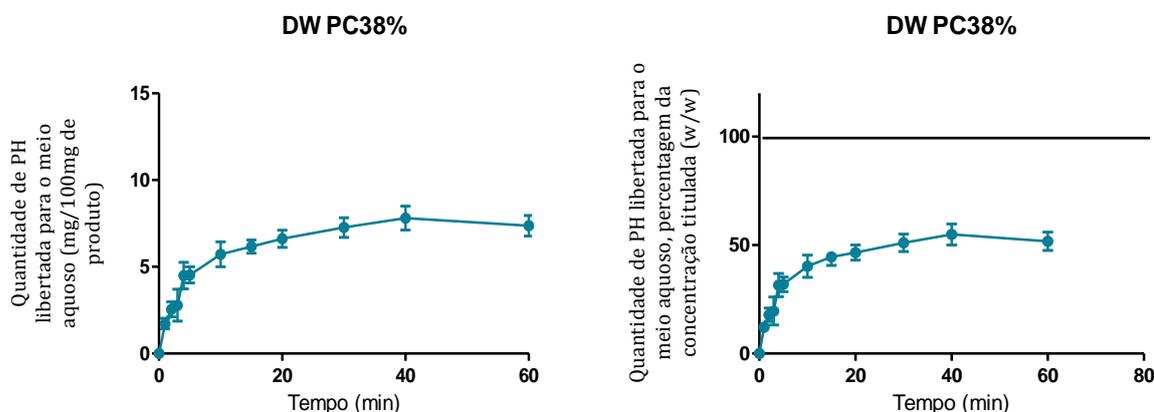


Figura 4a – Resultados da cinética de libertação de PH do produto DW PC38% para o meio aquoso, expressos em mg/100mg de produto aplicado. **Figura 4b** - Resultados da cinética de libertação de PH do produto DW PC38% para o meio aquoso, expressos em percentagem da concentração titulada (w/w). Ao tempo de aplicação indicado pelo fabricante, 15 minutos, observa-se a libertação de cerca de metade do seu conteúdo. Verifica-se que ao fim de 40 e 60 minutos ainda não ocorreu a libertação total de PH. Os resultados são apresentados como média \pm IC a 95% para n=13-20.

PH libertado em função da % da concentração titulada

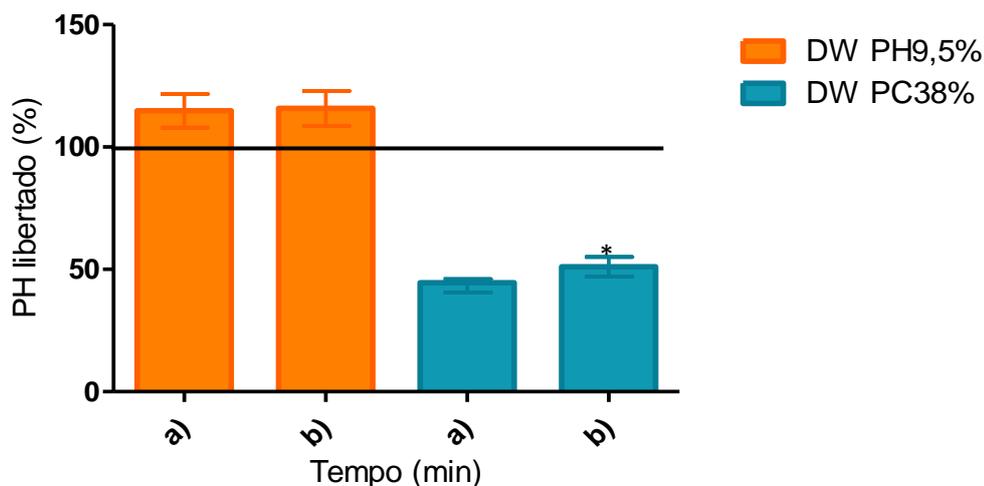


Figura 5 – Percentagem de PH libertada nos dois produtos em teste, em função da concentração de PH titulada: a) ao fim do tempo indicado pelo fabricante; b) ao dobro do tempo indicado pelo fabricante. No DW PH9,5%, não houve diferenças estatisticamente significativas entre o tempo indicado pelo fabricante e o dobro do tempo (30 e 60 minutos, respetivamente). O DW PC38%, apresentou diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) para a quantidade de PH libertada ao tempo indicado (15 minutos) e ao dobro do tempo estipulado (30 minutos). Os resultados são apresentados como média \pm IC a 95%: DW PH9,5% - **30'**: $IC_{95\%}(\mu) =]107,91; 121,64[$; **60'**: $IC_{95\%}(\mu) =]108,60; 122,99[$; DW PC38% - **15'**: $IC_{95\%}(\mu) =]40,60; 46,03[$; **30'**: $IC_{95\%}(\mu) =]47,10; 51,10[$, $n=13-20$.

5. Discussão

Com o objetivo de determinar as percentagens iniciais de PH contidas nos produtos DW PH9,5% e DW PC38%, para posteriormente ser possível a sua comparação com as percentagens indicadas pelos fabricantes, procedeu-se à titulação dos produtos com Cério IV. Os resultados obtidos mediante este procedimento laboratorial permitiram verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre a percentagem indicada pelo fabricante e a efetivamente existente nos dois produtos, o que permite contrariar a primeira hipótese nula formulada, sendo muito significativa para o grupo DW PC38% ($P < 0,001$) e significativa para o grupo DW PH9,5% ($P < 0,05$). Tais dados encontram-se em conformidade com os obtidos por Matis e Al Shethri e colaboradores. Estes autores avaliaram a concentração de agentes branqueadores industrializados e demonstraram que, geralmente, estes apresentam concentrações que diferem das indicadas pelos fabricantes (Al Shethri *et al.*, 2003; Matis *et al.*, 2003; Matis *et al.*, 2000).

Os agentes de branqueamento em ambulatório utilizados à noite apresentam geralmente como princípio ativo PC, com concentrações variáveis entre 10% e 40%, enquanto os agentes branqueadores diurnos utilizam maioritariamente PH, em concentrações que variam entre 6% e 10% (Al-Qunaian *et al.*, 2003). As concentrações dos dois produtos testados neste estudo encontram-se dentro dos intervalos habituais de concentrações relativas a cada princípio ativo, no que diz respeito aos agentes com o mesmo tipo de posologia.

No presente estudo, os produtos titulados apresentaram uma percentagem inicial de PH superior às indicadas pelo fabricante. A concentração obtida nos diferentes ensaios foi sempre semelhante, com uma variação entre 9,79% e 10,14%, no caso de DW PH9,5% e entre 14,22% e 14,23%, relativamente a DW PC38%. Segundo Martin e colaboradores, tal pode dever-se à presença de estabilizantes químicos nos produtos branqueadores (Martin *et al.*, 2007).

Estes resultados contrariam os obtidos por Matis e Al Shethri e colaboradores, que observaram, nos seus estudos, concentrações tituladas inferiores às estipuladas (Al Shethri *et al.*, 2003; Matis *et al.*, 2003; Matis *et al.*, 2000). Por outro lado, no estudo realizado por Marques foram observados, em alguns dos produtos testados, valores superiores aos indicados pelos fabricantes (Marques, 2008).

As diferenças verificadas podem dever-se a uma tentativa por parte dos fabricantes de compensar a instabilidade reconhecida dos agentes branqueadores, particularmente do PH, que facilmente se degrada em subprodutos durante o seu armazenamento, perdendo potencial branqueador. Com efeito, é frequente os fabricantes aumentarem a concentração de princípio ativo existente nos géis de branqueamento, com o intuito de salvaguardar o tempo de conservação e transporte (muitas vezes intercontinental) a que estes produtos estão permanentemente sujeitos.

Concordantemente, os fabricantes relatam uma disparidade frequente entre as concentrações de PH indicadas e as concentrações reais. Assim e, tendo em conta que a concentração inicial de PH poderá ser uma das variáveis mais importantes a ter em consideração nos resultados espectáveis, é importante que os médicos dentistas conheçam a concentração real dos produtos que recomendam aos seus pacientes (Marques, 2008; Matis *et al.*, 2003).

Com efeito, apesar do fator mais determinante para o consumidor na escolha do agente branqueador a utilizar ser usualmente o preço, é responsabilidade do médico dentista verificar se o gel branqueador que vai dispensar aos seus pacientes apresenta consistência, concentração e composição adequadas para a utilização clínica (Martin *et al.*, 2007).

Contudo, este estudo apenas analisou 1 lote de cada produto, contrariamente ao desenvolvido por Marques, onde foi analisada uma média de 3 lotes por produto, pelo que a possível variação entre lotes do mesmo produto não pôde ser considerada, o que configura uma fragilidade da presente investigação (Marques, 2008).

Na maioria dos produtos branqueadores utilizados em ambulatório recomenda-se uma aplicação, durante o dia ou noite, num curto período de tempo (Wattanapayungkul *et al.*, 1999). Assim, torna-se essencial saber qual o tempo de aplicação ideal para cada produto branqueador, no sentido de maximizar a sua eficácia, sem descuidar da segurança que deve ser intrínseca ao procedimento.

A cinética de liberação de um agente branqueador, de acordo com a ADA é um parâmetro importante que determina a segurança e eficácia de um agente branqueador *at-home*, utilizado durante o dia ou noite, e está relacionada com a taxa de degradação de um agente ativo num período de tempo específico (Al-Qunaian *et al.*, 2003).

No que respeita à avaliação da cinética de liberação do PH em meio aquoso dos dois produtos em teste, os resultados demonstraram que DW PH9,5% e DW PC38% apresentam uma liberação muito acentuada de PH durante os 5 minutos iniciais, a partir

dos quais a taxa de libertação é menos acelerada até aos 10 minutos de aplicação. Após este tempo, a libertação mantém valores relativamente constantes.

Estes valores encontram-se em concordância com o estudo realizado por Marques, que observou uma libertação muito acentuada de PH para o meio aquoso durante os primeiros 30 minutos, após os quais a libertação atenuou numa fase *plateau* em três dos produtos em teste (Marques, 2008).

Num estudo efetuado por Wattanapayungkul e colaboradores, observou-se uma taxa de degradação de PC mais elevada durante os primeiros 5 minutos. Outro estudo clínico de 1997 reportou que menos de 50% do agente branqueador original estava presente em 9 de 13 produtos, após a primeira meia hora de aplicação (Wattanapayungkul *et al.*, 1999). Também Matis e colaboradores observaram uma degradação mais elevada do PC no início do ensaio (Matis *et al.*, 1999). Contudo, estes estudos, foram realizados *in vivo*, medindo a quantidade residual do princípio ativo após utilização pelos pacientes. Como tal, existem variáveis intrínsecas a um estudo *in vivo*, nomeadamente a presença de película adquirida, fatores salivares (nomeadamente a peroxidase salivar, que degrada o PH), flora oral, a alteração no pH do agente ativo e a saturação de oxigénio no dente, que não podem ser consideradas no estudo *in vitro*, como é o caso do presente estudo. Não obstante estas diferenças, a cinética de libertação assume o mesmo padrão em ambas as tipologias de estudo.

No DW PH9,5% observou-se a libertação de aproximadamente 60% do seu conteúdo ao fim de apenas 2 minutos, correspondendo a 6,21mg de produto e, aos 15 minutos, metade do tempo indicado pelo fabricante (30 minutos), o produto de branqueamento já havia libertado a totalidade do seu conteúdo em PH, rejeitando a segunda hipótese nula formulada. Ao tempo indicado pelo fabricante, o produto libertou cerca de 115% do seu conteúdo, o que corresponde a 11,42mg. Valores superiores a 100% podem ser devidos à evaporação de água durante o procedimento experimental e consequente aumento da concentração de PH na placa (Marques, 2008).

O produto DW PC38% libertou metade do seu conteúdo ao fim de 30 minutos, no entanto, ao tempo indicado como ideal pelo fabricante (15 minutos), este produto apenas apresentou uma libertação de cerca de 45% do seu conteúdo, sendo correspondente a 6,17mg, nunca chegando a libertar a totalidade do mesmo até aos 60 minutos de atividade experimental, onde se observou a libertação de cerca de 52% do seu conteúdo, correspondendo a 7,36mg, aceitando a segunda hipótese nula formulada.

Para o DW PC38%, existiram diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) para a quantidade de PH libertada ao tempo indicado (15 minutos) e o dobro do tempo estipulado pelo fabricante (30 minutos). No que diz respeito a DW PH9,5%, as diferenças entre o tempo indicado pelo fabricante e o dobro do tempo (30 e 60 minutos, respetivamente) não foram estatisticamente significativas.

Os resultados obtidos podem estar relacionados com a composição do princípio ativo *per si*, já que o PC dissocia-se em PH e ureia, sendo que a ureia e os seus subprodutos parecem desacelerar a liberação do PC, segundo Al-Qunaian e colaboradores, o que não acontece com quando o princípio ativo é o PH (Al-Qunaian *et al.*, 2003).

Estes resultados podem ainda dever-se às diferentes preparações galénicas intrínsecas aos dois produtos em teste, nomeadamente no que diz respeito à diferença de viscosidade observada. Com efeito, Ploeger e colaboradores concluíram que o potencial branqueador dum gel depende grandemente da viscosidade do gel (Ploeger *et al.*, 1991). Durante o procedimento laboratorial, foi possível observar que o DW PC38% apresentava uma viscosidade bastante inferior comparativamente a DW PH9,5%.

Um estudo realizado por Betke e colaboradores defende que a glicerina, espessante utilizado nos dois produtos de branqueamento testados como veículo para o princípio ativo, pode absorver água, sendo um desidratante a altas concentrações (Betke *et al.*, 2006). O DW PH9,5% poderá apresentar um maior conteúdo em glicerina do que DW PC38%, o que poderá contribuir para explicar a sua maior viscosidade e, consequentemente, o seu maior potencial branqueador.

Os resultados deste trabalho parecem ainda sugerir que os tempos de aplicação recomendados pelo fabricante nos dois produtos podem não ser os adequados. Com efeito, a liberação da totalidade do conteúdo em PH não coincidiu com os tempos advogados pelo fabricante em nenhum dos dois produtos. É, como tal, necessária a realização de mais estudos que contemplem esta problemática, particularmente ensaios clínicos com períodos de *follow-up* relativamente curtos (seis meses a um ano) em que sejam testados vários protocolos, nomeadamente no que respeita ao tempo de aplicação, no sentido de averiguar a adequação desses protocolos à prática clínica.

6. Conclusão

O médico dentista deve ter em conta que a eficácia do procedimento branqueador é multifatorial. Como tal, a compreensão do mecanismo e padrão de degradação dos agentes branqueadores é essencial para potenciar os resultados, limitar os efeitos adversos e contribuir para a determinação dos tempos de aplicação apropriados.

Tendo em consideração as limitações deste estudo, podem retirar-se as seguintes conclusões:

(1) Os produtos titulados apresentaram percentagens iniciais de PH superiores às indicadas pelo fabricante.

(2) A cinética de libertação de PH em meio aquoso foi semelhante nos dois produtos testados, com um período inicial mais rápido, a partir do qual a taxa de libertação foi menos acelerada até estagnar em valores relativamente constantes.

(3) O produto DW PH9,5% libertou todo o seu conteúdo a partir de cerca de metade do tempo indicado pelo fabricante, enquanto o DW PC38% não chegou a libertar a totalidade do seu conteúdo, mesmo após ter decorrido o quádruplo do tempo indicado pelo fabricante.

Assim, os resultados obtidos são sugestivos de uma desadequação dos tempos de aplicação advogados pelo fabricante nos dois produtos, ainda que não seja possível produzir extrapolações clínicas a partir de um estudo *in vitro*.

Serão necessários mais estudos sobre a cinética de libertação de PH em meio aquoso e *in vivo* em produtos de branqueamento dentário e, em particular, ensaios clínicos dos produtos testados.

7. Referências bibliográficas

1. Al Machot, E., B. Noack, *et al.* (2010). "In vitro evaluation of two whitening regimens using color-analyzing methods." Quintessence Int **41**(2): 145-56.
2. Al Shethri, S., B. A. Matis, *et al.* (2003). "A clinical evaluation of two in-office bleaching products." Oper Dent **28**(5): 488-95.
3. Al-Qunaian, T. A., B. A. Matis, *et al.* (2003). "In vivo kinetics of bleaching gel with three-percent hydrogen peroxide within the first hour." Oper Dent **28**(3): 236-41.
4. Attin, T., C. Hannig, *et al.* (2004). "Effect of bleaching on restorative materials and restorations--a systematic review." Dent Mater **20**(9): 852-61.
5. Auschill, T. M., E. Hellwig, *et al.* (2005). "Efficacy, side-effects and patients' acceptance of different bleaching techniques (OTC, in-office, at-home)." Oper Dent **30**(2): 156-63.
6. Benbachir, N., S. Ardu, *et al.* (2008). "Spectrophotometric evaluation of the efficacy of a new in-office bleaching technique." Quintessence Int **39**(4): 299-306.
7. Bernardon, J. K., N. Sartori, *et al.* (2010). "Clinical performance of vital bleaching techniques." Oper Dent **35**(1): 3-10.
8. Betke, H., E. Kahler, *et al.* (2006). "Influence of bleaching agents and desensitizing varnishes on the water content of dentin." Oper Dent **31**(5): 536-42.
9. Bizhang, M., Y. H. Chun, *et al.* (2009). "Comparative clinical study of the effectiveness of three different bleaching methods." Oper Dent **34**(6): 635-41.
10. Browning, W. D., D. C. Chan, *et al.* (2008). "Comparison of traditional and low sensitivity whiteners." Oper Dent **33**(4): 379-85.

11. Browning, W. D., J. S. Blalock, *et al.* (2007). "Duration and timing of sensitivity related to bleaching." J Esthet Restor Dent **19**(5): 256-64; discussion 264.
12. Cardoso, P. C., A. Reis, *et al.* (2010). "Clinical effectiveness and tooth sensitivity associated with different bleaching times for a 10 percent carbamide peroxide gel." J Am Dent Assoc **141**(10): 1213-20.
13. Cavalli, V., A. F. Reis, *et al.* (2001). "The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite." Oper Dent **26**(6): 597-602.
14. Childs, R. E. and W. G. Bardsley (1975). "The steady-state kinetics of peroxidase with 2,2'-azino-di-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulphonic acid) as chromogen." The Biochemical journal **145**(1): 93-103.
15. Chng, H. K., J. E. Palamara, *et al.* (2002). "Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin." J Endod **28**(2): 62-7.
16. Dahl, J. E. and U. Pallesen (2003). "Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects." Crit Rev Oral Biol Med **14**(4): 292-304.
17. Dentists, C. o. E. (2011). Council of European Union Directive 76/768/EEC. C. o. E. Dentists. Brussels.
18. Dietschi, D., S. Rossier, *et al.* (2006). "In vitro colorimetric evaluation of the efficacy of various bleaching methods and products." Quintessence Int **37**(7): 515-26.
19. Faraoni-Romano, J. J., A. G. Da Silveira, *et al.* (2008). "Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness." J Esthet Restor Dent **20**(6): 395-402; discussion 403-4.

20. Fugaro, J. O., I. Nordahl, *et al.* (2004). "Pulp reaction to vital bleaching." Oper Dent **29**(4): 363-8.
21. Gomes, M. N., C. Francci, *et al.* (2009). "Effect of light irradiation on tooth whitening: enamel microhardness and color change." J Esthet Restor Dent **21**(6): 387-94.
22. Grobler, S. R., R. Hayward, *et al.* (2010). "Spectrophotometric assessment of the effectiveness of Opalescence PF 10%: a 14-month clinical study." J Dent **38**(2): 113-7.
23. Gurgan, S., F. Y. Cakir, *et al.* (2010). "Different light-activated in-office bleaching systems: a clinical evaluation." Lasers Med Sci **25**(6): 817-22.
24. Haywood, V. B. and H. O. Heymann (1989). "Nightguard vital bleaching." Quintessence Int **20**(3): 173-6.
25. Haywood, V. B., R. H. Leonard, *et al.* (1994). "Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching." J Am Dent Assoc **125**(9): 1219-26.
26. Hegedus, C., T. Bistey, *et al.* (1999). "An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface." J Dent **27**(7): 509-15.
27. Jeffery, G. H., J. Bassett, *et al.* (1989). in *Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis*, John Wiley & Sons Inc.
28. Jones, A. H., A. M. Diaz-Arnold, *et al.* (1999). "Colorimetric assessment of laser and home bleaching techniques." J Esthet Dent **11**(2): 87-94.
29. Jorgensen, M. G. and W. B. Carroll (2002). "Incidence of tooth sensitivity after home whitening treatment." J Am Dent Assoc **133**(8): 1076-82; quiz 1094-5.
30. Kaya, A. D., M. Turkun, *et al.* (2008). "Reversal of compromised bonding in bleached enamel using antioxidant gel." Oper Dent **33**(4): 441-7.

31. Kina, J. F., C. Huck, *et al.* (2010). "Response of human pulps after professionally applied vital tooth bleaching." Int Endod J **43**(7): 572-80.
32. Kossatz, S., A. P. Dalanhol, *et al.* (2011). "Effect of light activation on tooth sensitivity after in-office bleaching." Oper Dent **36**(3): 251-7.
33. Leonard, R. H., Jr. (1998). "Efficacy, longevity, side effects, and patient perceptions of nightguard vital bleaching." Compend Contin Educ Dent **19**(8): 766-70, 772, 774, *passim*.
34. Leonard, R. H., Jr., V. B. Haywood, *et al.* (1997). "Risk factors for developing tooth sensitivity and gingival irritation associated with nightguard vital bleaching." Quintessence Int **28**(8): 527-34.
35. Leonard, R. H., Jr., V. B. Haywood, *et al.* (1999). "Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 54 months post treatment." J Esthet Dent **11**(5): 265-77.
36. Marques, D. (2008). Efectos del peróxido de hidrógeno en la fisiología celular de la cavidad oral: estudio funcional y clínico. Departamento de Fisiologia. Caceres, Universidad de Extremadura. **PhD**.
37. Marson, F. C., L. G. Sensi, *et al.* (2008). "Clinical evaluation of in-office dental bleaching treatments with and without the use of light-activation sources." Oper Dent **33**(1): 15-22.
38. Martin, J. M., V. Torno, *et al.* (2007). "Specific concentration evaluation of 16% carbamide peroxide compounded at dispensing pharmacies." Braz Oral Res **21**(4): 318-22.
39. Marto, S., C. Coito, *et al.* (2012). "Effect of tooth whitening on dental restorative materials." Rev Port Estomatol Med Dent Cir MaxiloFac **53**(2): 71-76.
40. Mata, A. D., D. Marques, *et al.* (2009). in *Branqueamento Dentário. Estética em Medicina Dentária*. J. C. Ramos. Coimbra, Edição de autor: 16-32.

41. Matis, B. A. (2000). "Degradation of gel in tray whitening." Compend Contin Educ Dent Suppl(28): S28, S31-5; quiz S49.
42. Matis, B. A. (2003). "Tray whitening: what the evidence shows." Compend Contin Educ Dent **24**(4A): 354-62.
43. Matis, B. A., M. A. Cochran, *et al.* (2007). "Eight in-office tooth whitening systems evaluated in vivo: a pilot study." Oper Dent **32**(4): 322-7.
44. Matis, B. A., M. A. Cochran, *et al.* (2009a). "Review of the effectiveness of various tooth whitening systems." Oper Dent **34**(2): 230-5.
45. Matis, B. A., M. A. Cochran, *et al.* (2009b). "A clinical evaluation of two in-office bleaching regimens with and without tray bleaching." Oper Dent **34**(2): 142-9.
46. Matis, B. A., U. Gaiao, *et al.* (1999). "In vivo degradation of bleaching gel used in whitening teeth." J Am Dent Assoc **130**(2): 227-35.
47. Meireles, S. S., F. F. Demarco, *et al.* (2008a). "Validation and reliability of visual assessment with a shade guide for tooth-color classification." Oper Dent **33**(2): 121-6.
48. Meireles, S. S., S. S. Heckmann, *et al.* (2008b). "Efficacy and safety of 10% and 16% carbamide peroxide tooth-whitening gels: a randomized clinical trial." Oper Dent **33**(6): 606-12.
49. Ministério da Saúde (2001). Regulamentação de produtos cosméticos. Decreto-Lei n.º100/2001. Diário da República.
50. Moraes, R. R., J. L. Marimon, *et al.* (2006). "Carbamide peroxide bleaching agents: effects on surface roughness of enamel, composite and porcelain." Clin Oral Investig **10**(1): 23-8.

51. Nosaka, Y., M. Matsushita, *et al.* (2005). "Nitrogen-doped titanium dioxide photocatalysts for visible response prepared by using organic compounds." Science and Technology of Advanced Materials **6**(2): 143-148.
52. Nour El-din, A. K., B. H. Miller, *et al.* (2006). "Immediate bonding to bleached enamel." Oper Dent **31**(1): 106-14.
53. Paravina, R. D., W. M. Johnston, *et al.* (2007). "New shade guide for evaluation of tooth whitening--colorimetric study." J Esthet Restor Dent **19**(5): 276-83; discussion 283.
54. Perdigão, J., C. Francci, *et al.* (1998). "Ultra-morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide-bleached enamel." Am J Dent **11**(6): 291-301.
55. Ploeger, B. J., R. A. Robison, *et al.* (1991). "Quantitative in-vivo in-vivo comparison of five carbamide peroxide bleach gels." J Dental Res **70**(Spec Issue): 376.
56. Plotino, G., L. Buono, *et al.* (2008). "Nonvital tooth bleaching: a review of the literature and clinical procedures." J Endod **34**(4): 394-407.
57. Pohjola, R. M., W. D. Browning, *et al.* (2002). "Sensitivity and tooth whitening agents." J Esthet Restor Dent **14**(2): 85-91.
58. Price, R. B., M. Sedarous, *et al.* (2000). "The pH of tooth-whitening products." J Can Dent Assoc **66**(8): 421-6.
59. Pugh, G., Jr., L. Zaidel, *et al.* (2005). "High levels of hydrogen peroxide in overnight tooth-whitening formulas: effects on enamel and pulp." J Esthet Restor Dent **17**(1): 40-5; discussion 46-7.

60. Sasaki, R. T., A. J. Arcanjo, *et al.* (2009). "Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide." J Appl Oral Sci **17**(6): 611-6.
61. Seale, N. S., J. E. McIntosh, *et al.* (1981). "Pulpal reaction to bleaching of teeth in dogs." J Dent Res **60**(5): 948-53.
62. Skoog, D. A., D. M. West, *et al.* (1992). Fundamentals of Analytical Chemistry. London, Saunders College Publishing, Philadelphia.
63. Suemori, T., J. Kato, *et al.* (2008). "A new non-vital tooth bleaching method using titanium dioxide and 3.5% hydrogen peroxide with a 405-nm diode laser or a halogen lamp." Laser Physics Letters **5**(6): 454-459.
64. Sun, L., S. Liang, *et al.* (2011). "Surface alteration of human tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide." J Dent **39**(10): 686-92.
65. Suyama, Y., M. Otsuki, *et al.* (2009). "Effects of light sources and visible light-activated titanium dioxide photocatalyst on bleaching." Dent Mater J **28**(6): 693-9.
66. Swift, E. J., Jr. and J. Perdigão (1998). "Effects of bleaching on teeth and restorations." Compend Contin Educ Dent **19**(8): 815-20; quiz 822.
67. Swift, E. J., Jr., K. N. May, Jr., *et al.* (1999). "Two-year clinical evaluation of tooth whitening using an at-home bleaching system." J Esthet Dent **11**(1): 36-42.
68. Titley, K. C., C. D. Torneck, *et al.* (1993). "Adhesion of a resin composite to bleached and unbleached human enamel." J Endod **19**(3): 112-5.
69. Torneck, C. D., K. C. Titley, *et al.* (1990). "The influence of time of hydrogen peroxide exposure on the adhesion of composite resin to bleached bovine enamel." J Endod **16**(3): 123-8.

70. Ulukapi, H., Y. Benderli, *et al.* (2003). "Effect of pre- and postoperative bleaching on marginal leakage of amalgam and composite restorations." Quintessence Int **34**(7): 505-8.
71. van der Vyver, P. J., S. B. Lewis, *et al.* (1997). "The effect of bleaching agent on composite/enamel bonding." J Dent Assoc S Afr **52**(10): 601-3.
72. Wattanapayungkul, P., B. A. Matis, *et al.* (1999). "A clinical study of the effect of pellicle on the degradation of 10% carbamide peroxide within the first hour." Quintessence Int **30**(11): 737-41.
73. Weiger, R., A. Kuhn, *et al.* (1993). "Effect of various types of sodium perborate on the pH of bleaching agents." J Endod **19**(5): 239-41.
74. Wetter, N. U., E. P. Branco, *et al.* (2009). "Color differences of canines and incisors in a comparative long-term clinical trial of three bleaching systems." Lasers Med Sci **24**(6): 941-7.
75. Zalkind, M., J. R. Arwaz, *et al.* (1996). "Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study." Endod Dent Traumatol **12**(2): 82-8.
76. Zantner, C., F. Derdilopoulou, *et al.* (2006). "Randomized clinical trial on the efficacy of 2 over-the-counter whitening systems." Quintessence Int **37**(9): 695-706.
77. Zekonis, R., B. A. Matis, *et al.* (2003). "Clinical evaluation of in-office and at-home bleaching treatments." Oper Dent **28**(2): 114-21.
78. Zimmerli, B., F. Jeger, *et al.* (2009). "Bleaching of nonvital teeth. A clinically relevant literature review." Schweiz Monatsschr Zahnmed **120**(4): 306-20.