

MARCELO TABORDA DURSKI, CD

**USO DE ASCORBATO DE SÓDIO 35% PARA REMOÇÃO DO PERÓXIDO
RESIDUAL APÓS CLAREAMENTO EM CONSULTÓRIO**

**CURITIBA
2010**

MARCELO TABORDA DURSKI, CD

**USO DE ASCORBATO DE SÓDIO 35% PARA UMA RÁPIDA REMOÇÃO DO
PERÓXIDO RESIDUAL APÓS CLAREAMENTO EM CONSULTÓRIO**

**CURITIBA
2011**

SUMÁRIO

ARTIGO EM PORTUGUÊS	8
RESUMO	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS	11
2.1 PREPARO DOS ESPÉCIMES.....	11
2.2 GRUPOS.....	11
2.3 PROCEDIMENTO CLAREADOR.....	12
2.4 APLICAÇÃO DO ASCORBATO DE SÓDIO.....	13
2.5 TESTE COLORIMÉTRICO.....	13
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	14
3. RESULTADOS	15
4. DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	21
6. REFERÊNCIAS	22
7. ARTIGO EM INGLÊS	24
8. APÊNDICE	39
8.1 RESUMO DOS ARTIGOS UTILIZADOS NA DISCUSSÃO	40
8.2 MATERIAIS E MÉTODOS ESTENDIDO	49
8.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
9. ANEXOS	57
9.1 NORMAS DA REVISTA	58
9.2 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	64

RESUMO

Objetivo: Os objetivos deste trabalho foram verificar a quantidade de peróxido de hidrogênio residual após o clareamento em consultório e avaliar o efeito do ascorbato de sódio 35% sobre a remoção do agente clareador da estrutura dentinária. **Método:** Foram utilizados 70 terceiros molares humanos extraídos seccionados em blocos de dentina com dimensões 4 X 4 X 2 mm e separados em 8 grupos: G1 – sem clareamento, G2 – clareamento com medição diária, G3 – clareamento + ascorbato de sódio 35% (A.S.) 60 min 1X, G4 – clareamento + A.S. 10 min 1X, G5 – clareamento + A.S. 10 min 2X, G6 – clareamento + A.S. 5 min 2X, G7 – clareamento + A.S. 1 min 3X, G8 – clareamento + A.S. 1 min 2X. Para quantificar o peróxido de hidrogênio, foi utilizado teste colorimétrico no qual a enzima HRP e o OPD foram os reagentes. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal Wallis ($\alpha=0,05$). **Resultados:** Os resultados demonstraram ausência de peróxido de hidrogênio após 120 horas de avaliação e também nos grupos G5, G6, G7 e G8. Já os grupos G3 e G4 reduziram somente parte do peróxido, ainda permanecendo substância oxidante na estrutura dentinária. **Conclusões:** Duas aplicações por 1 min de ascorbato de sódio 35% proporcionou o mesmo efeito que um intervalo de 5 dias após o clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35%, com remoção total do agente clareador.

Palavras-chave: clareamento dental, peróxido de hidrogênio residual, antioxidante, ascorbato de sódio, colorimetria.

1. INTRODUÇÃO

Sistemas clareadores contemporâneos são apresentados na forma de peróxido de hidrogênio ou peróxido de carbamida,^{1,2,3} que podem ser aplicados externamente ao dente, procedimento denominado de clareamento vital,³ ou internamente, na câmara pulpar, denominado clareamento de dentes desvitalizados.⁴ Ambas as técnicas objetivam o clareamento de cromógenos presentes na dentina.^{3,5}

O mecanismo de ação do clareamento é baseado na difusão do peróxido de hidrogênio pelos túbulos dentinários e a oxidação dos pigmentos.⁶ Ou seja, independente do agente clareador utilizado, o peróxido de hidrogênio é o principal responsável pelo processo. Isto é facilmente compreendido uma vez que a catálise do peróxido de carbamida resulta em peróxido de hidrogênio e uréia.^{1,2}

Por ser um procedimento simples, eficaz e conservador o clareamento dental é amplamente utilizado.¹ Dentre as suas indicações está a prévia utilização em procedimentos estéticos na região anterior, com a finalidade de obter uma maior homogeneidade da cor e facilitar o uso dos materiais restauradores.³

Com relação aos dentes desvitalizados, após o clareamento dental, a confecção de restaurações definitivas é um pré-requisito para prevenir a microinfiltração.⁴ Dentes que receberam tratamento endodôntico, frequentemente requerem a utilização de pinos intrarradiculares para reter e ancorar o material restaurador.⁷ Desta forma, o uso de técnicas adesivas são freqüentes após o clareamento dental, tanto na cimentação de pinos quanto na restauração dental.

Entretanto, o oxigênio liberado pelo peróxido de hidrogênio interfere na qualidade da união adesiva.⁸⁻¹⁵ Assim, existe a necessidade de espera de dias ou semanas para a realização dos procedimentos adesivos.^{8,10-18} O tempo exato para eliminação do peróxido residual pós-

clareamento não apresenta consenso na literatura. Estudos indicam uma espera de 24 horas⁹, uma semana^{8,12,14-16,18,19}, duas semanas¹³ ou até mesmo de 3 semanas.^{10,11}

Porém, alguns recursos como o uso de ascorbato de sódio podem ser utilizados para reduzir este período entre o clareamento e a restauração dental definitiva.^{4,11,12,14,15,18,20-22} Por ser este um potente antioxidante e um produto com baixíssima toxicidade é um dos mais indicados.²³ Muitos estudos utilizaram o ascorbato de sódio 10% para reverter à redução da resistência de união ao esmalte e à dentina após o clareamento dental.^{4,11,12,14,15,18,20-22,24,25} Um estudo recente²⁶ demonstrou que a concentração do antioxidante deve ser diretamente proporcional à concentração de peróxido de hidrogênio, ou seja, com a utilização de peróxido de hidrogênio 35% uma maior concentração de ascorbato de sódio foi necessária para reduzir o agente oxidante.

Desta forma, existe a necessidade de um estudo com espécimes de dentes humanos para verificar o tempo de permanência do peróxido de hidrogênio nessa estrutura, bem como avaliar o efeito da maior concentração de ascorbato de sódio sobre a remoção do peróxido residual após o clareamento dental. Com estes objetivos, as hipóteses a serem testadas foram que (i) o tempo de armazenamento em água dos espécimes influenciará na remoção do peróxido de hidrogênio residual presente na dentina; (ii) o tempo de contato da substância antioxidante com a estrutura da dentina clareada não implicará em maior efetividade na eliminação do peróxido residual; (iii) o número de aplicações de ascorbato de sódio 35% não influenciará na remoção do peróxido residual.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Setenta dentes terceiros molares humanos extraídos, obtidos do banco de dentes da PUCPR, foram utilizados neste estudo, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Todos os dentes apresentavam coroas híginas e foram armazenados em água destilada a 4°C até a sua utilização, em um período que não excedeu um mês.

2.1 *Preparo dos espécimes*

Inicialmente, os dentes tiveram suas raízes e esmalte oclusal removidos com auxílio de um disco diamantado (Struers A/S, Ballerup, Dinamarca) em cortadeira metalográfica de precisão (**Modelo** Struers A/S, Ballerup, Dinamarca). Então, foram fixados com godiva termoativada (Kerr Corporation, Orange, Califórnia, EUA) em uma placa de acrílico (40 mm X 40 mm X 5 mm) e, em seguida, quatro cortes longitudinais e um transversal foram feitos para obtenção de espécimes em dentina com dimensões de 4 mm X 4 mm X 2 mm. As medidas foram confirmadas com paquímetro digital (Mitutoyo, Utsonomiya, Japão), e quando necessário, o espécime foi desgastado com lixa de carbetto de silício (3M, St. Paul, Minnesota, EUA) de granulação 400 até a obtenção da área necessária. Cada dente originou apenas um espécime.

2.2 *Grupos*

Os espécimes foram divididos em 8 grupos que estão dispostos na Tabela 1. Os espécimes utilizados no grupo 1 (controle) foram também utilizados no grupo 2, uma vez que o grupo 1 não sofreu nenhum tipo de tratamento e o teste empregado não implicou em destruição do espécime.

Tabela 1: Grupos de acordo com os procedimentos realizados

Grupos	n	Procedimento clareador	Ascorbato de sódio 35%
G1	10	nenhum	nenhum
G2	10	H2O2 35%	nenhum
G3	10	H2O2 35%	1 x 60 min
G4	10	H2O2 35%	1 x 10 min
G5	10	H2O2 35%	2 x 10 min
G6	10	H2O2 35%	2 x 5 min
G7	10	H2O2 35%	3 x 1 min
G8	10	H2O2 35%	2 x 1 min

2.3 Procedimento clareador

O gel clareador Whiteness HP Maxx (FGM, Joinville, SC, Brasil) foi selecionado para a realização do clareamento. A utilização do agente clareador seguiu as instruções do fabricante, ou seja, 3 aplicações de 15 min cada, totalizando 45 min. Cada espécime recebeu uma quantidade de aproximadamente 0,15 g de gel para todo o procedimento. Após o término das aplicações, os espécimes foram colocados em microtubos (Eppendorf Co., Hamburgo, Alemanha), de forma individualizada, para receberem duas lavagens sequenciais com 500 µL de água reagente grau 1 (Millipore Milli-Q academic system – Millipore Co., Bilerica, MA, EUA), durante 1 min, sob agitação (Rotary Shaker 3300 - Eppendorf Co., Hamburgo, Alemanha).

2.4 Aplicação do ascorbato de sódio

Uma solução de ascorbato de sódio 35% (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA) com pH de 7,2 foi utilizada como antioxidante. Cada espécime recebeu 500 µL da solução sob agitação (Rotary Shaker 3300 - Eppendorf Co., Hamburgo, Alemanha) por tempo e número de aplicações pré-determinados (Tabela 1).

2.5 Teste Colorimétrico

Inicialmente, soluções padrão foram feitas a partir de peróxido de hidrogênio 30% (Merck, Darmstadt, Alemanha) para permitir a comparação com o peróxido residual dos espécimes. Desta forma, por meio de diluição, foram obtidas soluções de peróxido com concentrações de 0,0005%, 0,0004%, 0,0002%, 0,0001%, 0,00005% e 0%.

Para medição do peróxido residual, os espécimes receberam 500 µL de água reagentes grau 1 e foram mantidos sob agitação durante 1 minuto. Após este período, foi realizada a extração de 100 µL que foram aplicados em poços de uma microplaca com fundo chato (Nunc – Poly Sorp, Roskilde, Dinamarca), em triplicata por espécime. Em seguida 20 µL de um tampão citrato com pH 5,2, 6x concentrado com enzima peroxidase de rábano em uma concentração de 1,1 nM (HRP – Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA) e o cromógeno ortofenilenodiamino (OPD – Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA) foram adicionados aos poços previamente preenchidos da microplaca. Decorridos 4 min, a reação foi paralisada com 50 µL de ácido sulfúrico 2M (Merck, Darmstadt, Alemanha) e a microplaca levada a um leitor Microplate Reader 680 (Bio-Rad Co., Hercules, CA, EUA) a 490 nm de comprimento de onda, em triplicata por espécime. As absorbâncias obtidas foram usadas para fazer uma curva de calibração e quantificar o peróxido de hidrogênio.

No grupo 2 foram realizadas medições diárias até a observação de ausência de peróxido residual. Desta forma, após a leitura imediatamente posterior ao procedimento

clareador, os espécimes deste grupo receberam a alíquota de água reagente grau 1 como descrito inicialmente e permaneceram em estufa a 37 °C por 24 h, quando então uma nova leitura era realizada. Tal procedimento foi repetido diariamente até que não fosse mais detectado peróxido.

2.6 Análise estatística

A média dos valores de absorvância para cada grupo foi tabulada e testes estatísticos foram conduzidos utilizando o pacote estatístico SPSS para Windows 13.0. O teste de Kruskal-Wallis, com nível de significância $\alpha = 0,05$, foi empregado para verificar as diferenças de peróxido residual em cada um dos grupos avaliados.

3. RESULTADOS

Em relação à permanência do peróxido de hidrogênio residual na estrutura da dentina, os resultados estão dispostos no Gráfico 1 e na Tabela 2. Pode ser observado que houve uma alta liberação imediatamente após o clareamento dental e que esta aumentou nas 24 h após a aplicação. Já em 48 h, a liberação de peróxido reduziu bruscamente em uma curva que tendeu a zero. No entanto, a ausência de peróxido começou a ser semelhante ao grupo sem clareamento, a partir de 72 h após o procedimento. Uma vez que o tempo de armazenamento dos espécimes em água influenciou na remoção do peróxido de hidrogênio residual, a primeira hipótese foi aceita.

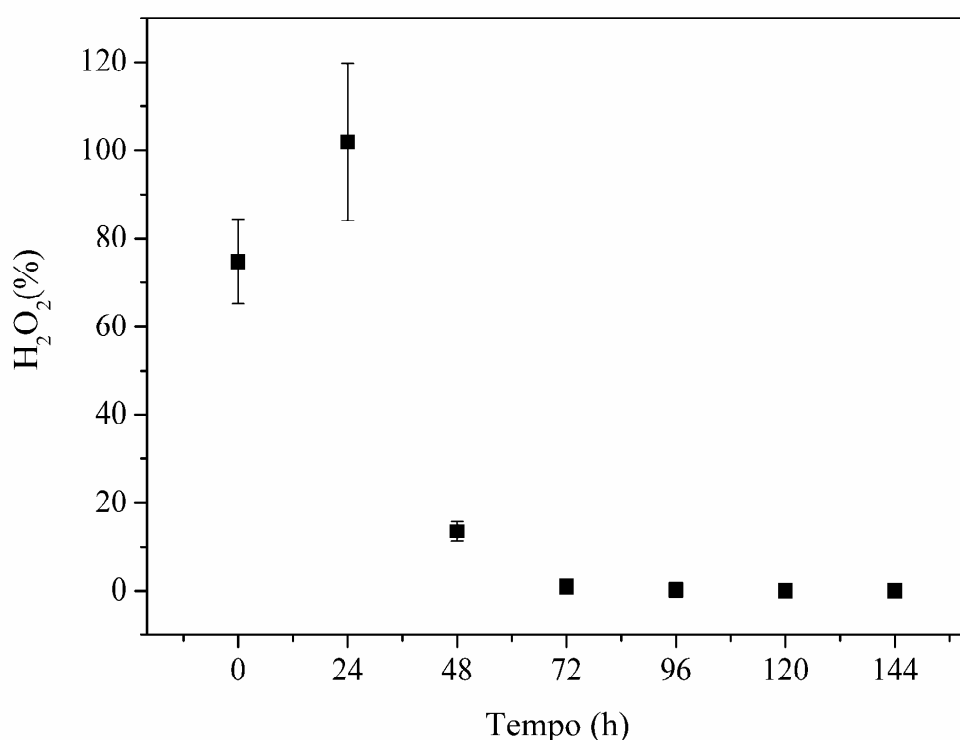


Figura 1 – Média de peróxido de hidrogênio residual (%), valores $\times 10^{-3}$, obtida por medições diárias.

Tabela 2 – Média de peróxido de hidrogênio residual (D.P.) de acordo com os grupos analisados

Grupos	Média de Peróxido Residual (D.P.) %
G1 - Sem clareamento	0 (0) ^a
G2 - Clareamento – imediato	74,7 x 10 ⁻³ (9,62 x 10 ⁻³) ^b
G2 - Clareamento - 24 horas pós tratamento	101,9 x 10 ⁻³ (17,89 x 10 ⁻³) ^b
G2 - Clareamento - 48 horas pós tratamento	13,6 x 10 ⁻³ (2,31 x 10 ⁻³) ^b
G2 - Clareamento - 72 horas pós tratamento	0,9 x 10 ⁻³ (0,18 x 10 ⁻³) ^{a,b}
G2 - Clareamento - 96 horas pós tratamento	0,2 x 10 ⁻³ (0,03 x 10 ⁻³) ^{a,b}
G2 - Clareamento - 120 horas pós tratamento	0 (0) ^a
G2 - Clareamento - 144 horas pós tratamento	0 (0) ^a
G3 – SA 35% 60 min 1X	0,4 x 10 ⁻³ (0,25 x 10 ⁻³) ^{a,b}
G4 - SA 35% 10 min 1X	1,6 x 10 ⁻³ (0,50 x 10 ⁻³) ^b
G5 - SA 35% 10 min 2X	0 (0) ^a
G6 - SA 35% 5 min 2X	0 (0) ^a
G7 - SA 35% 1 min 3X	0 (0) ^a
G8 - SA 35% 1 min 2X	0 (0) ^a

* Letras iguais indicam semelhança estatística de acordo com o teste de Kruskal Wallis ($\alpha = 0,05$).

Entre os grupos que foram submetidos ao tratamento com o ascorbato de sódio 35%, todos obtiveram redução imediata do peróxido de hidrogênio residual (Tabela 2). Quando comparados os grupos 3 (1x 60 min) e 4 (1x 10 min), não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre eles, sendo ambos semelhantes ao grupo 2 ($p > 0,05$) imediatamente após o procedimento clareador. Este fato leva a concordância com a segunda hipótese, ou seja, o tempo de contato da substância antioxidante com a estrutura da dentina clareada não implicou em maior efetividade na remoção do peróxido residual.

Os grupos que obtiveram ausência total de peróxido residual foram aqueles nos quais o ascorbato de sódio 35% foi aplicado mais de uma vez, independente do tempo em que a substância permaneceu em contato com a dentina (Tabela 2). Todos os grupos submetidos a mais de uma aplicação da substância antioxidante (G5, G6, G7 e G8) foram semelhantes ao G1 ($p < 0,05$), que não recebeu tratamento clareador. Devido a isto a terceira hipótese foi rejeitada.

4. DISCUSSÃO

Na primeira parte do estudo, foi verificada a retenção de peróxido de hidrogênio na estrutura dentinária. Foi detectada grande liberação de agente oxidante (H_2O_2) na dentina, imediatamente após o clareamento dental e esta quantidade aumentou de forma significativa no tempo de 24 h. Tal fato é facilmente compreendido uma vez que os espécimes permaneceram em contato com a água maior tempo, o que permitiu maior liberação para o meio. Após 48 h, foi observada drástica queda na quantidade desta substância, o que continuou até o quarto dia após o procedimento clareador, atingindo valores abaixo do limite de detecção do teste após 120 h de avaliação.

Os resultados deste estudo demonstraram que mais de 80% do peróxido de hidrogênio retido foi eliminado em 24 h. Em um trabalho que avaliou o tempo de difusão do peróxido de hidrogênio na dentina,²⁷ os autores encontraram resultado semelhante, no qual a taxa de liberação de íons OH^- do clareamento dental foi alta após 1 h, permanecendo assim por 24 h, reduzindo em 48 h e atingindo limites mínimos no tempo de 120 h.

A retenção de peróxido de hidrogênio residual nos túbulos e na matriz dentinária pode ser responsável pela redução da resistência de união.¹⁹ Lai et al.¹¹ avaliaram o padrão de nanoinfiltração na estrutura de esmalte restaurado após clareamento dental e encontraram falhas na interface do esmalte clareado quando o procedimento adesivo foi realizado imediatamente após o clareamento dental. Isso sugere a presença de oxigênio resultante da degradação do peróxido, o que pode causar a inibição da polimerização do sistema adesivo^{11,28} ou até dificultar sua infiltração.¹¹ Desta forma, o ideal é que haja um intervalo de tempo para que todo o residual do processo de clareamento seja eliminado ou que uma

substância antioxidante seja utilizada para permitir que procedimentos adesivos sejam realizados com um tempo de espera menor.^{4, 11, 12, 14, 15, 18, 20, 22}

De acordo com os resultados do presente trabalho, o ascorbato de sódio 35% mostrou eficiência na eliminação do resíduo proveniente do clareamento em consultório. Todos os grupos que utilizaram substância antioxidante após o clareamento dental apresentaram redução de peróxido residual. Com o aumento do tempo de contato do ascorbato de sódio com a dentina clareada, não houve uma remoção significativa do peróxido de hidrogênio, uma vez que a aplicação por 10 min foi semelhante à aplicação por 60 min. Estes achados são diferentes dos indicados por Lai et al.,¹¹ os quais afirmaram que para um resultado satisfatório, o antioxidante deve permanecer por pelo menos 3 h em contato com a estrutura clareada. Em estudo recente,¹⁵ a importância do tempo de aplicação do ascorbato de sódio foi discutida e o aumento do tempo de aplicação foi defendido por alguns autores para obter maior efetividade da substância antioxidante.^{4, 12, 20-22}

Apesar desse achado, o grupo onde o ascorbato de sódio 35% foi aplicado durante 60 min foi semelhante ao grupo controle, sem clareamento. O mesmo não ocorreu com o grupo 4, no qual o ascorbato manteve contato com a dentina por 10 min. Uma explicação para tal resultado é que apesar da reação entre oxidante e antioxidante continuar com um maior tempo de contato entre ambos, o pico desta reação ocorre em torno de um minuto, ou seja, é neste período que um melhor aproveitamento desta substância acontece. Este resultado vem corroborar com uma pesquisa recente²⁶ a respeito da cinética de reação entre peróxido de hidrogênio e ascorbato de sódio, onde os autores verificaram que em um período de 5 min, resultados satisfatórios foram encontrados com relação à eliminação do agente oxidante pelo antioxidante.

Isto também justifica o fato de, no presente estudo, o número de aplicações de antioxidante ter sido mais importante que o tempo de contato desta substância. Apesar de

uma aplicação de ascorbato de sódio 35 % por 60 min demonstrar resultado estatisticamente semelhante ao grupo controle, sem clareamento, ainda restou peróxido de hidrogênio na estrutura da dentina, dentro dos limites de detecção do teste utilizado. Enquanto que com dupla aplicação de ascorbato de sódio, independente do tempo utilizado, todo o peróxido residual foi eliminado.

Uma vez que duas aplicações de 1 min de ascorbato de sódio 35% foram suficientes para eliminar o peróxido residual dos túbulos e da matriz dentinária, sugere-se que com maior concentração de antioxidante, somente uma aplicação de 1 min apresente resultado semelhante.

A utilização do antioxidante por um menor tempo clínico é de suma importância, já que permite solução em casos de serem realizados procedimentos adesivos. Além disto, permite que o uso e o controle da substância antioxidante fique para o cirurgião-dentista, ao contrário da utilização do ascorbato de sódio em gel por um maior tempo, que seria realizado pelo próprio paciente em uma moldeira, como indicado por alguns autores.^{4, 11, 15, 22}

Os achados do presente estudo estão relacionados à utilização do peróxido de hidrogênio 35%, entretanto investigações adicionais devem ser realizadas com outras substâncias utilizadas para o clareamento, como, por exemplo, o peróxido de carbamida em torno de 37%. Este se decompõe em ureia e peróxido de hidrogênio aproximadamente 15%. Assim, é possível que somente uma aplicação de ascorbato de sódio 35% resulte em eliminação do agente clareador de modo satisfatório. Estudos complementares com testes de resistência de união podem determinar o melhor protocolo a ser utilizado quando o clareamento em consultório for realizado.

O conhecimento dos produtos utilizados para o clareamento dental e da sua interação com procedimentos clínicos adesivos é de extrema importância para o profissional e, a partir deste entendimento, melhores resultados podem ser obtidos.

5. CONCLUSÃO

De acordo com as condições do presente trabalho, pôde-se concluir que o peróxido de hidrogênio 35% permanece na estrutura da dentina por um período de 120 h após o procedimento de clareamento em consultório. Entretanto, a aplicação de ascorbato de sódio 35%, durante 1 min, por duas vezes, foi suficiente para proporcionar a eliminação do peróxido residual, imediatamente após o clareamento.

Desta forma, o ascorbato de sódio pode ser uma alternativa a ser utilizada quando não for possível esperar pela eliminação do peróxido de hidrogênio, o que levaria em torno de 5 dias. Conforme observado neste trabalho, o número de aplicações de ascorbato de sódio foi mais importante que o seu tempo de contato na dentina. Assim, foi demonstrado que com maior concentração de antioxidante, menor tempo clínico é necessário para a completa remoção de peróxido de hidrogênio residual após o clareamento.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi suportado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), Brasil. Os autores agradecem ao Laboratório de Patologia Redox, Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná.

6. REFERÊNCIAS

1. Attin T, Hannig C, Wiegand A, Attin R. Effect of bleaching on restorative materials and restorations-a systematic review. *Dental Material*. 2004; **20**: 852-861.
2. Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *Journal of Dentistry*. 2007; **35**: 889-96.
3. Sulieman MA. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontology 2000*. 2008; **48**:148-69.
4. Turkun M, Turkun LS. Effect of nonvital bleaching with 10 % carbamide peroxide on sealing ability of resin composite restorations. *International Endodontic Journal*. 2004; **37**: 52-60.
5. McCaslin AJ, Haywood VB, Potter BJ, Dickinson GL, Russell CM. Assessing dentin color changes from nightguard vital bleaching. *Journal of the American Dental Association*. 1999; **130**:1485-90.
6. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the Hydroxyl Radical and Hydrogen Peroxide on Tooth Bleaching. *Journal of Endodontics*. 2004; **30**: 45-50.
7. Cagidiaco MC, Goracci C, Garcia-Godoy F, Ferrari M. Clinical studies of fiber posts: a literature review. *The International Journal of Prosthodontics*. 2008; **21**: 328-36.
8. Miles PG, Pontier JP, Bahiraei D, Close J. The effect of carbamide peroxide bleach on the tensile bond strength of ceramic brackets: an vitro study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 1994; **106**:371-375.
9. Dishman MV, Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. *Dental Material*, 1994; **9**:33-36.
10. Cavalli V, Giannini M, Reis AF, Ambrosano GMB. The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite. *Operative Dentistry*, 2001; **26**: 597-602.
11. Lai SCN, Tay FR, Cheung GP, Mak YF, Carvalho RM, Wei SH, Toledano et. al. DH. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *Journal of Dental Research*. 2002; **81**: 477-481.
12. Kaya AD, Turkun M. Reversal of Dentin bonding to bleached teeth. *Operative Dentistry*, 2003; **28**: 825-829.
13. Miguel LC, Baratieri LN, Monteiro S, Ritter AV. In situ effect of 10% carbamide peroxide on resin-dentin bond strengths: A novel pilot study. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2004; **16**: 235-242.
14. Gökçe B, Cömlekoğlu ME, Ozpinar B, Türkün M, Kaya AD. Effect of antioxidant treatment on bond strength of a luting resin to bleached enamel. *Journal of Dentistry* 2008; **36**:780-5.
15. Kaya AD, Türkün M, Arici M. Reversal of compromised bonding in bleached enamel using antioxidant gel. *Operative Dentistry* 2008; **33**:441-7.

16. Titley KC, Torneck CD, Ruse ND, Krmec D. Adhesion of a resin composite to bleached and unbleached human enamel. *Journal of Endodontics* 1993; **19**:112-115.
17. Attin T, Paque F, Ajam F, Lennon M. Review of the Current status of tooth Whitening with the Walking Bleach Technique. *International Endodontic Journal* 2003; **36**: 313-329.
18. Turkun M, Kaya AD. Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. *Journal of Oral Rehabilitation* 2004; **31**: 1184- 1191.
19. Spyrides GM, Perdigao J, Pagani C, Araujo MAM, Spyrides, SMM. Effect of whitening agents on dentin bonding. *Journal Esthetic Dentistry* 2000; **12**: 264-270.
20. Kimyai S, Valizadeh H. The effect of hydrogel and solution of sodium ascorbate on bond strength in bleached enamel. *Operative Dentistry* 2006; **31**: 496-499.
21. Kimyai S, Valizadeh H. Comparison of the effect of hydrogel and a solution of sodium ascorbate on dentin-composite bond strength after bleaching. *The Journal of Contemporary Dental Practice* 2008; **9**:105-12.
22. Turkun M, Celik EU, Kaya AD, Arici M. Can the hydrogel form of sodium ascorbate be used to reverse compromised bond strength after bleaching. *The Journal of Adhesive Dentistry* 2009; **11**:35-40.
23. Lai SC, Mak YF, Cheung GS, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *Journal of Dental Research* 2001; **80**: 1919-24.
24. Bulut H, Kaya AD, Turkun M. Tensile bond strength of brackets after antioxidant treatment on bleached teeth. *European Journal of Orthodontics* 2005; **27**:466-71.
25. Bulut H, Murat T, Kaya AD. Effect of an antioxidantizing agent on the shear bond strength of brackets bonded to bleached human enamel. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 2006; **129**:266-272.
26. Freire A, Souza EM, de Menezes Caldas DB, Rosa EA, Bordin CF, de Carvalho RM, et. al. Reaction kinetics of sodium ascorbate and dental bleaching gel. *Journal of Dentistry* 2009; **37**:932-6.
27. Camps J, de Franceschi H, Idir F, Roland C. About I. Time-course diffusion of hydrogen peroxide through human dentin: clinical significance for young tooth internal bleaching. *Journal of Endodontics*; 2007; **33**:455-9.
28. Rueggeberg FA, Margeson DH 1990. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. *Journal of Dental Research*,1990; **69**:1652-8.

7. ARTIGO EM INGLÊS

ABSTRACT

Objective: The aims of this study were to quantify the amount of residual hydrogen peroxide after in-office bleaching and investigate the effect of 35% sodium ascorbate on the removal of this bleaching agent from dentin. Methods: Seventy extracted human third molars were sectioned to form 4 x 4 x 2 mm blocks of dentin and then separated into 8 groups as follows: G1 – no bleaching; G2 – bleaching and daily measurement; G3 – bleaching + 35% sodium ascorbate (S.A.) for 60 min 1x; G4 – bleaching + S.A. for 10 min 1x; G5 – bleaching + S.A. for 10 min 2x; G6 – bleaching + S.A. for 5 min 2x; G7 – bleaching + S.A. for 1 min 3x; and G8 – bleaching + S.A. for 1 min 2x. Hydrogen peroxide was quantified by colorimetric assay using horseradish peroxidase and ortho-phenylenediamine as the enzyme and substrate, respectively. The data were analyzed using the Kruskal-Wallis test ($\alpha=0.05$). Results: The results showed that there was no hydrogen peroxide left after 120 hours or in groups G5, G6, G7 or G8, whereas it was only partially removed in groups G3 and G4. Conclusion: Two applications of 35% sodium ascorbate for 1 min produced the same result, complete removal of the bleaching agent, as that observed 5 days after dental bleaching using 35% hydrogen peroxide without any sodium ascorbate.

Keywords: dental bleaching, residual hydrogen peroxide, antioxidant, sodium ascorbate, colorimetry.

1. INTRODUCTION

Contemporary bleaching systems use hydrogen peroxide or carbamide peroxide^{1,2,3}, which can be applied externally, in a procedure known as vital bleaching³, or internally, in the pulp chamber, a procedure that can only be used in non-vital teeth.⁴ Both techniques are intended to bleach the chromogens in the dentin.^{3,5}

The mechanism of action involved in bleaching is based on the diffusion of hydrogen peroxide through dentinal tubules and the oxidation of the pigments.⁶ In other words, irrespective of the bleaching agent used, hydrogen peroxide is the main chemical responsible for the process. Catalysis of the bleaching agent carbamide peroxide, for example, produces hydrogen peroxide and urea.^{1,2}

Because it is a simple, effective and conservative procedure, dental bleaching is widely used.¹ It is indicated, among other things, for use prior to cosmetic procedures in the anterior region of the mouth to achieve a more uniform color and make it easier to apply restorative material.³

In the case of non-vital teeth, definitive restorations must be used after dental bleaching to prevent microleakage.⁴ Teeth that have been treated endodontically very often need root posts to retain and anchor the restorative material.⁷ Adhesive techniques are therefore frequently used after dental bleaching.

However, the oxygen released by hydrogen peroxide affects the quality of the adhesive bond.⁸⁻¹⁵ Hence, adhesive procedures should only be carried out several days or weeks after dental bleaching.^{8,10-18} There is no consensus in the literature yet regarding the exact time needed for the residual peroxide to be eliminated. Various studies suggest waiting 24 hours⁹, or one^{8,12,14-16,18,19}, two¹³ or even three weeks.^{10,11}

However, some methods that allow the period between bleaching and application of the definitive restoration to be reduced have been proposed^{4,11,12,14,15,18,20-22}. These include the use of sodium ascorbate, which, because it is a powerful antioxidant with extremely low toxicity, is one of the most commonly recommended substances.²³ Sodium ascorbate at a concentration of 10% has been used in many studies to reverse the reduction in dentin or enamel bond strength after dental bleaching.^{11,12,14,15,18,20-22,24,25} A recent study²⁶ showed that the concentration of antioxidant must be directly proportional to the concentration of hydrogen peroxide; in other words, when 35% hydrogen peroxide was used, a greater concentration of sodium ascorbate, above 10%, the concentration normally used for this purpose, was needed to reduce the oxidizing agent.

Hence, a study using specimens of human teeth is needed to investigate the length of time for which hydrogen peroxide remains in teeth after dental bleaching and the effect of a greater concentration of sodium ascorbate on the removal of residual peroxide after bleaching. With these aims in mind, the following hypotheses were tested: (i) the length of time for which the specimens were stored in water would have an influence on the removal of residual hydrogen peroxide in the dentin; (ii) increased contact time between the antioxidant substance and the bleached dentin would not lead to more effective removal of any residual peroxide; and (iii) the number of applications of 35% sodium ascorbate would not have an effect on the removal of any residual peroxide.

2. MATERIALS AND METHODS

Seventy previously extracted human third molars from the Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR) tooth bank were used in this study, which was approved by the PUCPR Research Ethics Committee. All the teeth had healthy crowns and were stored in distilled water at 4°C until use; the teeth were used no later than one month after storage.

2.1 Preparation of the specimens

First, the roots and occlusal enamel were removed from the teeth with the aid of a diamond disc (Struers A/S, Ballerup, Denmark) in a precision metallographic cut-off machine (Struers A/S, Ballerup, Denmark). The teeth were then mounted on an acrylic plate (40 mm x 40 mm x 5 mm) using impression compound sticks (Kerr Corporation, Orange, California, USA), and four longitudinal cuts and one transverse cut were made to produce one 4 mm x 4 mm x 2 mm dentin specimen from each tooth. Measurements were made with a digital caliper (Mitutoyo, Utsonomiya, Japan), and when necessary, the specimens were ground with 400 grit silicon carbide paper (3M, Sumaré, São Paulo, Brazil) to give the required area. Only one specimen was obtained from each tooth.

2.2 Groups

The specimens were divided into eight groups, as shown in Table 1. The specimens used in group 1 (the control group) were also used in group 2, as group 1 was not subjected to any type of treatment and the test used did not damage the test specimens.

Table 1: Groups and the corresponding procedures used

Group	n	Bleaching procedure	35% sodium ascorbate
G1	10	none	none
G2	10	35% H ₂ O ₂	none
G3	10	35% H ₂ O ₂	1 x 60 min
G4	10	35% H ₂ O ₂	1 x 10 min
G5	10	35% H ₂ O ₂	2 x 10 min
G6	10	35% H ₂ O ₂	2 x 5 min
G7	10	35% H ₂ O ₂	3 x 1 min
G8	10	35% H ₂ O ₂	2 x 1 min

2.3 Bleaching procedure

Whiteness HP Maxx (FGM, Joinville, SC, Brazil) was chosen as the bleaching agent. This was applied in accordance with the manufacturer's instructions, i.e., three applications for 15 min each, giving a total of 45 min of bleaching. Approximately 0.15 g of gel was applied to each tooth during the procedure. After the applications, the specimens were placed individually in Eppendorf microtubes (Eppendorf Co., Hamburg, Germany) and submitted to two sequential washes with 500 µL of type 1 reagent-grade water (Millipore Milli-Q Academic system – Millipore Co., Billerica, MA, USA) for one minute while shaking (Rotary Shaker 3300 - Eppendorf Co., Hamburg, Germany).

2.4 Application of sodium ascorbate

A 35% solution of sodium ascorbate (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) at pH 7.2 was used as an antioxidant. A total of 500 µL of the solution was added to each tube, and

the specimen was shaken in an Eppendorf 3300 rotary shaker. The number of applications and the duration of each application were as shown in Table 1.

2.5 Colorimetric Test

First, standard solutions were made from 30% hydrogen peroxide (Merck, Darmstadt, Germany) to allow the residual peroxide in the specimens to be compared. Peroxide solutions with the following concentrations were obtained by dilution: 0.0005%; 0.0004%; 0.0002%; 0.0001%; 0.00005% and 0%.

To measure the residual peroxide, 500 μ L of type 1 reagent-grade water were added to each tube, and the specimens were shaken for 1 minute. After this, 100 μ L were transferred to wells in a PolySorpTM flat-bottom microplate (Nunc, Roskilde, Denmark) in triplicate for each specimen. Then 20 μ L of a 6x citrate buffer at pH 5.2 with horse radish peroxidase at a concentration of 1.1 nM (HRP – Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) and the chromogen ortho-phenylenediamine (OPD – Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) were added to the previously filled wells in the microplate. After 4 min, the reaction was stopped with 50 μ L of sulphuric acid 2M (Merck, Darmstadt, Germany) and the microplate was loaded in a model 680 microplate reader (Bio-Rad Co., Hercules, CA, USA) and read at a wavelength of 490 nm. The absorption figures thus obtained were used to plot a calibration curve and quantify the amount of hydrogen peroxide in the specimens.

Specimens in group 2 were measured daily until no residual peroxide was detected. After the reading immediately following the bleaching procedure, 500 μ L of reagent grade 1 water as described above was added to the specimens in this group. These were then kept in an incubator at 37°C for 24 h, when a new reading was taken. This procedure was repeated until no more peroxide was detected.

2.6 Statistical analysis

The average absorption value for each group was recorded and statistical tests were carried out using SPSS for Windows version 13.0. The Kruskal-Wallis test with a 5% significance level was used to identify any differences in the amount of residual peroxide in the different groups.

3. RESULTS

Graph 1 and Table 2 show the amounts of residual hydrogen peroxide in the dentin. It can be seen that a large amount was released immediately after bleaching and that this increased during the 24 h following the application. In contrast, after 48 h the amount of peroxide released fell dramatically in a curve that tended to zero. However, the amount of peroxide only started to become similar to that in the group that was not bleached 72 h after the procedure. As the length of time for which the specimens were stored in water affected the removal of residual hydrogen peroxide, the first hypothesis was accepted.

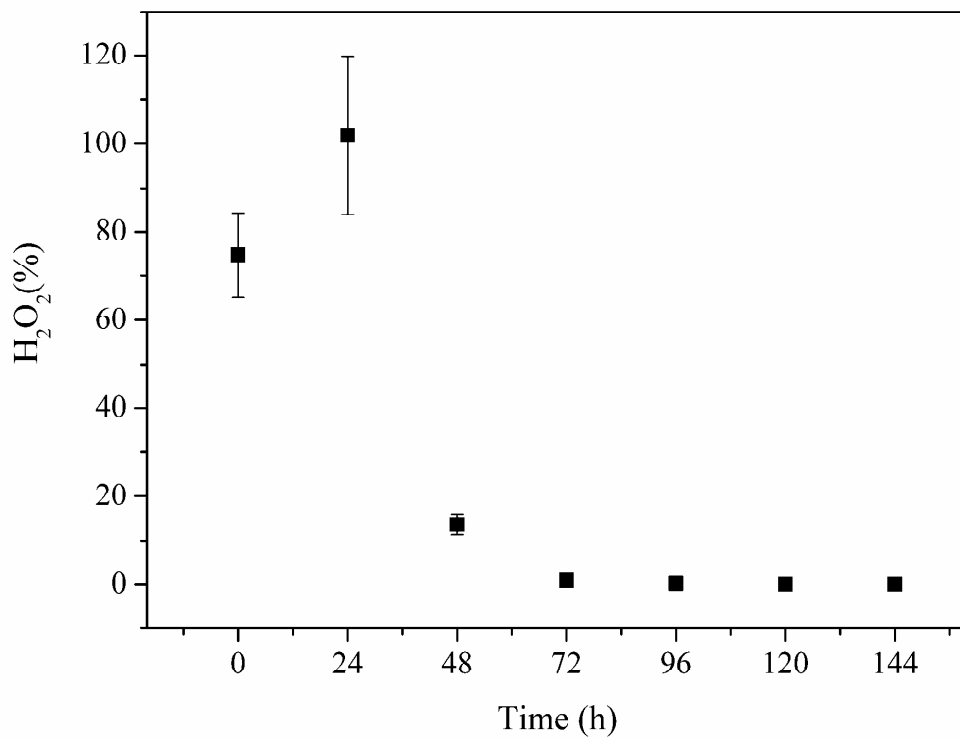


Figure 1 – Mean amount of residual hydrogen peroxide ($\% \times 10^{-3}$) measured daily.

Table 2 – Mean amount of residual hydrogen peroxide (S.D.) for each of the groups analyzed.

Groups	Mean Amount of Residual Peroxide (S.D.) %
G1 - No bleaching	0 (0) ^a
G2 - Bleaching - immediate	74.7 x 10 ⁻³ (9.62 x 10 ⁻³) ^b
G2 - Bleaching - 24 hours after treatment	101.9 x 10 ⁻³ (17.89 x 10 ⁻³) ^b
G2 - Bleaching - 48 hours after treatment	13.6 x 10 ⁻³ (2.31 x 10 ⁻³) ^b
G2 - Bleaching - 72 hours after treatment	0.9 x 10 ⁻³ (0.18 x 10 ⁻³) ^{a,b}
G2 - Bleaching - 96 hours after treatment	0.2 x 10 ⁻³ (0.03 x 10 ⁻³) ^{a,b}
G2 - Bleaching - 120 hours after treatment	0 (0) ^a
G2 - Bleaching - 144 hours after treatment	0 (0) ^a
G3 – SA 35% 60 min 1x	0.4 x 10 ⁻³ (0.25 x 10 ⁻³) ^{a,b}
G4 – SA 35% 10 min 1x	1.6 x 10 ⁻³ (0.50 x 10 ⁻³) ^b
G5 – SA 35% 10 min 2x	0 (0) ^a
G6 – SA 35% 5 min 2x	0 (0) ^a
G7 – SA 35% 1 min 3x	0 (0) ^a
G8 – SA 35% 1 min 2x	0 (0) ^a

* results with the same letter are statistically similar in the Kruskal-Wallis test ($\alpha = 0.05$).

All the groups in which the specimens were treated with 35% sodium ascorbate had an immediate reduction in residual hydrogen peroxide (Table 2). There was no statistically significant difference ($p > 0.05$) between groups G3 (1 x 60 min) and G4 (1 x 10 min), and both were similar to group G2 ($p > 0.05$), no sodium ascorbate. This led us to accept the second hypothesis, i.e., that increased contact time between the antioxidant substance and the bleached dentin does not lead to more effective removal of any residual peroxide.

The groups in which there was no residual peroxide at all were those in which 35% sodium ascorbate was applied more than once, irrespective of the length of time for which it was in contact with the dentin (Table 2). All the groups that received more than one application of antioxidant (G3, G5, G6, G7 and G8) were similar to G1 ($p < 0.05$), which did not receive any bleaching treatment. In light of this result, the third hypothesis was rejected.

4. DISCUSSION

In the first part of the study, the variation in the amount of hydrogen peroxide retained in the dentin over time was determined. A large amount of the oxidizing agent (H_2O_2) was released from the dentin immediately after dental bleaching, and there was a further significant increase during the first 24 h. This is easily explained by the fact that the specimens remained in contact with water for longer, allowing more of the oxidant to be released into the medium. After 48 h a dramatic reduction in the amount of oxidant was observed; this continued until the fourth day after bleaching, and after 120 h the amount of oxidant left was below the detection threshold of the test.

The results of this study showed that more than 80% of the hydrogen peroxide that had been retained was eliminated within 24 h. In a study that investigated the diffusion time of hydrogen peroxide in dentin,²⁷ the authors obtained similar results; they found that the rate of release of OH^- ions generated during dental bleaching was high after 1 h and remained high for 24 h, reducing after 48 h and reaching a minimum after 120 h.

The residual hydrogen peroxide in the dentin tubules and matrix may be responsible for the reduction in bond strength.¹⁹ Lai et al.¹¹ investigated nanoleakage patterns in the structure of enamel restorations following bleaching and found failures at the bleached enamel interface when the adhesive procedures were carried out immediately after bleaching. This suggests that oxygen is present as a result of the breakdown of peroxide, inhibiting polymerization of the adhesive system^{11,28} or even preventing infiltration by the fluid resin.¹¹ Hence, adhesive procedures should ideally only be carried out after sufficient time has passed for any residual hydrogen peroxide from the bleaching process to be eliminated, or an antioxidant should be used to allow these procedures to be carried out sooner.^{4, 11, 12, 14, 15, 18, 20,}

The findings of this study show that 35% sodium ascorbate was effective in eliminating residual peroxide produced by in-office bleaching. All the groups in which the antioxidant was used following bleaching showed a reduction in residual peroxide. There was no significant further removal of hydrogen peroxide with increased contact time between sodium ascorbate and bleached dentin as the applications for 10 min yielded similar results to those for the 60 min applications. These findings conflict with those of Lai et al.,¹¹ who reported that the antioxidant must remain in contact with the structure that has been bleached for at least three hours. In a recent study,¹⁵ the importance of the application time of sodium ascorbate was discussed, and an increase in this time has been defended by some authors as a means of making the antioxidant more effective.^{4, 12, 20-22}

Although no significant differences were found between applications for 10 min and 60 min, the result for group G3 (35% sodium ascorbate applied for 60 min) was similar to that for the control group (no bleaching), which was not the case for group G4 (35% sodium ascorbate in contact with dentin for 10 min). One explanation for this is that although a longer contact time between sodium ascorbate and dentin results in a longer reaction time between the oxidizing and reducing agents, the reaction peak occurs after around one minute, after which the reaction is very slow. This result agrees with those of a recent study²⁶ into the kinetics of the reaction between hydrogen peroxide and sodium ascorbate in which the authors reported satisfactory elimination of the oxidizing agent by the reducing agent within 5 min.

This also explains the fact that in the present study the number of applications of antioxidantizing agent was more important than the contact time with the substance. Although the results with an application of 35% sodium ascorbate for 60 min were statistically similar to those for the control group, in which no bleaching was carried out, residual hydrogen peroxide was still present in the dentin in levels above the detection threshold for the test

being used. In contrast, with double applications of sodium ascorbate, all residual peroxide was removed, irrespective of the length of time used.

As two 1 min applications of sodium ascorbate were sufficient to eliminate the residual peroxide from the dentin tubules and matrix, a single 1 min application of this antioxidant at a higher concentration may yield a similar result.

Shortening the time for which the antioxidant must be used in-office is extremely important as this not only allows adhesive procedures to be carried out quickly when required but also allows the dental surgeon to control the use of the antioxidant, in contrast to the application by patients themselves of sodium ascorbate for a longer period in a gel form in a tray, as recommended by various authors.^{4, 11, 15, 22}

As the findings of this study are based on the use of 35% hydrogen peroxide, further studies are required using other bleaching agents, such as carbamide peroxide at a concentration of approximately 37%. This bleaching agent breaks down into urea and hydrogen peroxide at approximately 15%. Hence, a single application of 35% sodium ascorbate may eliminate the bleaching agent satisfactorily. Further studies into bond strength are required to determine the best protocol for use with in-office bleaching.

A knowledge of the products used for dental bleaching and their interaction with adhesive procedures is of vital importance for dental professionals as this allows better results to be achieved with any treatments carried out.

5. CONCLUSION

It can be concluded that when used at a concentration of 35%, hydrogen peroxide remains in the dentin for 120 h after in-office bleaching. However, two 1 min applications of

35% sodium ascorbate were enough to eliminate residual peroxide immediately after bleaching.

Sodium ascorbate is thus an alternative when it is not possible to wait for hydrogen peroxide to be eliminated, a process that usually takes around five days. The number of applications of sodium ascorbate was more important than the length of time during which the antioxidant was in contact with the dentin. This study has shown that with a greater concentration of antioxidant, less time is needed in the clinic to completely remove residual hydrogen peroxide after bleaching.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by CAPES, Brazil. The authors would like to thank the Redox Pathology Laboratory in the Department of Basic Pathology, Federal University of Paraná.

8. APÊNDICE

8.1 RESUMO DOS ARTIGOS UTILIZADOS NA DISCUSSÃO

Camps J, de Franceschi H, Idir F, Roland C, About I. Time-course diffusion of hydrogen peroxide through human dentin: clinical significance for young tooth internal bleaching. Journal Endodontic 2007; 33(4):455-9.

O objetivo deste estudo foi registrar o tempo de difusão do peróxido de hidrogênio através da dentina humana, a partir de um gel de peróxido de carbamida, utilizado com a técnica "walking bleach", a fim de determinar o seu tempo de renovação ideal. Trinta e seis molares humanos recém-extraídos foram utilizados. Dezoito foram extraídos por motivos ortodônticos em pacientes com menos de 20 anos (grupo de dentes jovens) e dezoito foram extraídos por razões periodontais em pacientes entre 40 e 60 anos (grupo de dentes velhos). Os dentes foram tratados endodonticamente e foi criado um defeito na junção cimento-esmalte. Os dentes foram suspensos em frascos contendo água e as cavidades de acesso foram preenchidas com 20 µL do gel de peróxido de hidrogênio 20%. A difusão de peróxido de hidrogênio foi avaliada em 1 hora, 24 horas, 48 horas e 120 horas. O fluxo difusivo e a difusão máxima foram calculados, bem como o tempo de renovação ideal. A difusão de peróxido de hidrogênio através de dentes jovens durou 352 horas, já em dentes velhos o tempo de duração foi de 291 horas. O fluxo difusivo e a difusão máxima foram maiores entre os dentes jovens do que em dentes velhos. O tempo de renovação ideal para dentes jovens foi de 33 horas, já para os dentes velhos foi de 18 horas.

Spyrides GM, Perdigao J, Pagani C, Araujo MAM. Spyrides, SMM. Effect of whitening agents on dentin bonding. Journal Esthetic Dentistry 2000; 12:264-270.

O estudo designou-se a avaliar o efeito da resistência adesiva de 3 regimes de clareamento: clareamento em consultório com peróxido de hidrogênio (PH) 35% por 30 minutos, clareamento em consultório com peróxido de carbamida (PC) 35% por 30 minutos e clareamento caseiro com PC 10% por 6 horas. A hipótese nula testada foi que a resistência adesiva na dentina após uma semana não seria diferente daquela obtida imediatamente após o clareamento. Cento e vinte incisivos bovinos foram divididos em 4 regimes de tratamento (n=30): grupo A (controle) – sem clareamento; grupo B – PH 35% por 30 min; grupo C – PC 35% por 30 min e grupo D – PC 10% por 6 horas. Para cada grupo metade dos espécimes

(n=15) foram restaurados com Single Bond/Z100 (3M ESPE) imediatamente após o clareamento, enquanto que a outra metade foi restaurada após armazenamento por uma semana em saliva artificial a 37°C. Os espécimes foram submetidos ao teste de cisalhamento em uma máquina Instron. Para todos os grupos restaurados imediatamente após o clareamento houve redução significativa da resistência adesiva. Para os grupos restaurados após uma semana, o grupo clareado com PH 35% resultou na maior resistência adesiva (11.5 ± 3.3 MPa) enquanto que o grupo clareado com PC 10% resultou na menor resistência adesiva (4.5 ± 3.0 MPa). A espera de uma semana para restauração ocasionou um aumento significativo da resistência para os grupos B (PH 35%) e C (PC 35%). A armazenagem em saliva artificial afetou o grupo controle reduzindo a resistência adesiva em 53% do original. Os autores justificaram o fato da resistência adesiva não ter aumentado para o grupo D (PC 10%), quando da espera de uma semana, ao maior tempo de aplicação do PC (6 horas) comparado aos demais grupos (30 minutos), o que pode ter ocasionado maior acúmulo de oxigênio nos túbulos dentinários. A redução da resistência adesiva na dentina imediatamente após o clareamento foi significativa para os 3 regimes de clareamento comparado ao grupo controle. Esta redução foi mantida para o PC 10%, mesmo após a espera de 1 semana. A hipótese nula foi rejeitada, pelo menos 2 dos 3 tratamentos clareadores obtiveram uma resistência adesiva significativamente diferente daquela encontrada imediatamente após o clareamento.

Lai SCN, Tay FR, Cheung GP, Mak YF, Carvalho RM, Wei SH, Toledano et al. DH. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. Journal of Dental Research. 2002; 81 (7) 477-481.

Trinta molares extraídos tiveram as faces mesial e distal utilizadas como superfícies de adesão e foram separados em grupos. Grupo I: controle; grupo II: clareamento com peróxido de carbamida 10% por 8 horas; grupo III: clareamento + aplicação de ascorbato de sódio 10% durante 3 horas. Os espécimes de esmalte humano foram tratados com água destilada (controle) e gel de peróxido de carbamida 10%. Logo após, estes espécimes foram tratados ou não com ascorbato de sódio 10% por 3 horas sem a troca da solução. Eles foram aderidos com Single Bond (3M-ESPE) e Prime & Bond NT (Dentsply DeTrey) e restaurados com resina composta. Os espécimes foram preparados para teste de microtração e microscopia eletrônica de transmissão, após terem sido imersos em nitrato de prata amoniacal para avaliação de nanoinfiltração. A resistência adesiva de ambos os adesivos foram reduzidas após o clareamento, mas foram revertidas às condições ideais, após o

tratamento com ascorbato de sódio 10%. A redução da resistência de união resina-esmalte em dente clareado é provável que seja causada por uma liberação de oxigênio, que afeta os componentes de polimerização da resina.

Rueggeberg FA, Margeson DH 1990. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. Journal Dental Research 1990; 69:1652-8.

O oxigênio é conhecido por inibir a polimerização de radical vinil em resinas compostas utilizadas em dentística. O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito da inibição do oxigênio no potencial de cura de uma resina sobre esmalte bovino. Para o teste de cisalhamento foram utilizados 30 incisivos bovinos divididos em 3 grupos (n=10). Os espécimes foram confeccionados com sistema adesivo convencional e uma resina composta (Herculite XR, Kerr) utilizando um anel de cobre de 1,5 mm de altura por 6,25 mm de diâmetro. A confecção dos espécimes diferia quanto ao ambiente, sendo os 3 grupos: ar ambiente, argônio e ar ambiente/argônio. Após o teste de cisalhamento os espécimes foram examinados por microscopia eletrônica de varredura. Para o teste de conversão de monômeros foram confeccionados cinco espécimes para cada grupo, divididos de acordo com a condição atmosférica: ar ambiente, argônio, ar ambiente/argônio e a espectrofotometria infravermelha foi o método de escolha para o grau de conversão. Os espécimes confeccionados em ar ambiente apresentaram baixa conversão dos monômeros assim como baixa resistência ao cisalhamento. Já quando os espécimes foram confeccionados em ambiente de argônio altos valores de resistências ao cisalhamento e grau de conversão foram encontrados. A análise por microscopia eletrônica de varredura mostrou uma camada de inibição de polimerização nos espécimes confeccionados em ar ambiente, enquanto que nos espécimes confeccionados sob argônio a camada de resina era uniforme. Os autores afirmam que os efeitos adversos do oxigênio na cura de resinas foram demonstrados neste estudo.

Turkun M, Turkun LS. Effect of nonvital bleaching with 10 % carbamide peroxide on sealing ability of resin composite restorations. International Endodontic Journal, 2004; 37:52-60.

Os objetivos deste estudo foram determinar o efeito do clareamento de dente desvitalizado com peróxido de carbamida 10% na capacidade de selamento de restaurações

em resina compostas aderida com sistema adesivo autocondicionante e também, comparar os efeitos do tratamento com antioxidante e espera para restaurar após clareamento, no selamento marginal. Quarenta e oito dentes incisivos superiores foram divididos em 4 grupos com 12 espécimes cada, após terem sido realizados todos os procedimentos para tratamento endodôntico. Grupo 1: grupo controle, onde as cavidades de acesso endodôntico foram restauradas com sistema adesivo autocondicionante e resina composta. Os demais grupos foram clareados com peróxido de carbamida 10%, por 8 horas/dia, durante uma semana e diferiram de acordo com a restauração subsequente. Grupo 2: restaurado imediatamente após o procedimento clareador. Grupo 3: os espécimes foram tratados com ascorbato de sódio 10% por 3 horas antes do procedimento restaurador. Grupo 4: os espécimes foram imersos em saliva artificial por uma semana antes da restauração. Dez espécimes de cada grupo foram sujeitos a infiltração com tinta e 2 foram analisados por MEV. A infiltração foi avaliada por sistema padrão de score. A análise estatística utilizou os testes Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Os grupos 1, 3 e 4 exibiram padrão de infiltração similar e menor que o grupo 2. O selamento marginal de restauração de dentes desvitalizado foi afetado pelo clareamento com peróxido de carbamida 10%. Entretanto o tratamento com ascorbato de sódio 10% assim como a espera de 1 semana foram suficientes para reverter a redução do selamento da restauração após clareamento dental.

Kaya AD, Turkun M. Reversal of Dentin bonding to bleached teeth. Operative Dentistry, 2003; 28(6) 825-829.

Este estudo determinou o efeito da aplicação de antioxidante na resistência de união entre resina composta e dentina clareada. Noventa dentes humanos extraídos para fins ortodônticos foram utilizados. A superfície vestibular de cada dente foi desgastada até atingir a dentina. As superfícies polidas foram submetidas a nove tratamentos distintos: 1) clareamento com gel (35% rembrandt virtuoso); 2) clareamento com gel + ascorbato de sódio 10% (AS); 3) clareamento com gel + Butilhidroxianisol 10% (BHA); 4) clareamento com solução (peróxido de hidrogênio 35%); 5) clareamento com solução + AS 10%; 6) clareamento com solução+ 10% BHA; 7) clareamento com gel + imersos em saliva artificial por sete dias; 8) clareamento com solução + imersos em saliva artificial por sete dias; 9) nenhum tratamento. Após o procedimento adesivo, a resina composta foi aplicada em todos os espécimes. Os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas e uma

máquina universal de ensaios determinou a resistência ao cisalhamento. Os dados foram avaliados por Análise de Variância e teste de Duncan. A resistência adesiva nos grupos com dentina clareada diminuiu significativamente em comparação ao grupo controle. Por outro lado, o tratamento com antioxidante teve um efeito de reversão na resistência de união à dentina. Após o tratamento clareador, a aplicação de ascorbato de sódio 10% foi efetiva em reverter a resistência de união. Nas amostras onde o antioxidante foi aplicado após o processo de clareamento, a resistência de união em dentina ficou no mesmo nível que os dentes mantidos em saliva artificial por sete dias.

Gökçe B, Cömlekoğlu ME, Ozpinar B, Türkün M, Kaya AD. Effect of antioxidant treatment on bond strength of a luting resin to bleached enamel. Journal of Dentistry 2008; 36(10):780-5.

O objetivo deste estudo foi analisar comparativamente o efeito do tratamento antioxidante e a espera para união após o clareamento com peróxido de carbamida, na resistência ao cisalhamento (SBS) do cimento resinoso ao esmalte. Quarenta superfícies de esmalte foram preparadas a partir de molares humanos recém-extraídos e foram divididos em três grupos de clareamento (n = 10) e um grupo controle (n = 10). O grupo 1 constou de espécimes aderidos imediatamente após o clareamento. No grupo 2, os espécimes foram tratados com um agente antioxidante, ascorbato de sódio 10%, enquanto que no grupo 3, os espécimes foram imersos em saliva artificial por 1 semana após o clareamento. No grupo 4: os espécimes não foram clareados, mas imersos em saliva artificial por 1 semana antes da adesão. Quarenta blocos de cerâmica (Empress 2, Ivoclar) foram preparados e cimentadas aos dentes com um cimento resinoso dual (Variolink II, Ivoclar). Os espécimes foram termociclados e os testes foram realizados utilizando uma máquina universal de ensaios. A análise de fratura das superfícies aderidas foi realizada com MEV. A análise estatística foi feita pelo teste de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney U-tests. Enquanto os corpos-de-prova que foram aderidos imediatamente após o clareamento (grupo I) demonstraram menor resistência ao cisalhamento, o grupo tratado com ascorbato de sódio 10% após o clareamento (grupo 2) demonstrou resistência adesiva significativamente maior que as amostras do grupo controle (grupo 4). Não houve diferenças significativas entre o grupo com espera de tempo para restaurar (grupo 3) e o grupo controle. Os autores concluíram que o uso de ascorbato de sódio 10% pôde reverter a resistência de união comprometida.

Kaya AD, Türkün M, Arici M. Reversal of compromised bonding in bleached enamel using antioxidant gel. Operative Dentistry 2008; 33:441-7.

O objetivo do estudo foi determinar o melhor tempo de aplicação para efetividade de um gel a base de ascorbato de sódio. As superfícies vestibulares de setenta incisivos bovinos foram polidas com lixa 600. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em sete grupos: 1) clareamento (10% Rembrandt Xtra-Comfort + imersão em saliva artificial por 7 dias), 2) procedimento adesivo imediatamente após o clareamento, 3) clareamento + ascorbato de sódio 10% (SA) em gel por 10 min, 4) clareamento + SA em gel por 60 min, 5) clareamento + SA em gel por 120 min, 6) clareamento + SA em gel por 240 min, 7) clareamento + SA em gel por 480 min. Após a aplicação do sistema adesivo, a resina composta foi aplicada em todos os espécimes. Os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas e uma máquina de ensaios determinou a resistência ao cisalhamento. Os dados foram avaliados por Análise de Variância e teste Tukey. A aplicação do antioxidante no esmalte clareado foi eficaz no aumento da resistência ao cisalhamento da resina composta ao esmalte. O antioxidante em forma de gel deve ser aplicado sobre o esmalte por pelo menos 60 minutos, de forma que possa ser suficientemente eficaz. Com o aumento do período de aplicação dos antioxidantes sobre o esmalte, a força de união do composto no tecido do esmalte também aumentou. O aumento observado nos grupos 5, 6 e 7 foi estatisticamente significativo. A aplicação do processo pelo próprio paciente reduz o período de tempo gasto na clínica.

Turkun M, Kaya AD. Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. Journal of Oral Rehabilitation 2004; 31:1184-1191.

A proposta deste estudo foi investigar comparativamente o efeito do tratamento antioxidante e a espera para adesão, após o clareamento, com três diferentes concentrações de peróxido de carbamida (PC), na resistência ao cisalhamento da resina composta ao esmalte. Cem superfícies vestibulares de esmalte foram obtidas a partir de incisivos bovinos e foram divididas em três grupos de clareamento: 10%, 16% e 22% PC (n = 30) e um grupo controle. Cada grupo de clareamento foi então dividido em três subgrupos (n = 10). Grupo 1: espécimes aderidos imediatamente após o clareamento. Grupo 2: espécimes foram tratados com o agente antioxidante, ascorbato de sódio 10%, por 10 minutos. Grupo 3: espécimes foram imersos em saliva artificial por 1 semana após o clareamento. Grupo controle:

espécimes não foram clareados. Após o clareamento, os espécimes foram restaurados com Clearfil SE Bond e Clearfil AP-X. Posteriormente, sofreram termociclagem e foram testados por cisalhamento até a falha. A análise da fratura foi realizada por meio de MEV. Os dados de resistência ao cisalhamento foram submetidos à Análise de Variância seguida pelo teste de Duncan ao nível de significância de $p < 0,05$. A resistência ao cisalhamento da resina composta ao esmalte imediatamente após o clareamento com peróxido de carbamida 10%, 16% e 22% foi significativamente menor do que ao esmalte do grupo controle. Para os três grupos de clareamento (10%, 16% e 22%), quando o tratamento com o antioxidante e a espera de 1 semana para restaurar foram comparados ao o grupo controle, não houve diferença estatisticamente significativa na resistência ao cisalhamento.

Kimyai S, Valizadeh H. The effect of hydrogel and solution of sodium ascorbate on bond strenght in bleached enamel. Operative Dentistry 2006; 31(4):496-499.

Este estudo avaliou o efeito do ascorbato de sódio na forma de gel e solução sobre a resistência de união esmalte/resina após clareamento. Sessenta superfícies de esmalte vestibular de terceiros molares foram divididos aleatoriamente em 4 grupos ($n = 15$). As superfícies de esmalte foram submetidas a tratamentos diferentes: 1) clareamento (gel de peróxido de carbamida 10%); 2) clareamento + solução de ascorbato de sódio 10% por 3 horas; 3) clareamento + hidrogel de ascorbato de sódio 10% por 3 horas; 4) clareamento + hidrogel de ascorbato de sódio 20% por 3 horas. Os espécimes foram restaurados com Single Bond e resina composta e preparados para o teste de cisalhamento. Os dados foram avaliados por Análise de Variância e teste Tukey. A resistência adesiva foi significativamente aumentada após os tratamentos com ascorbato de sódio hidrogel e solução. Não houve diferença significativa entre as diferentes formas de preparações de ascorbato de sódio.

Turkun M, Celik EU, Kaya AD, Arici M. Can the hydrogel form of sodium ascorbate be used to reverse compromised bond strenght after bleaching. The Journal of Adhesive Dentistry 2009; 11:35-40.

Este estudo avaliou o efeito de hidrogel de ascorbato de sódio em diferentes concentrações (2,5%, 5% e 10%) na resistência ao cisalhamento após o clareamento do

esmalte com peróxido de carbamida 10%. Sessenta superfícies de esmalte vestibular, obtidas a partir de 30 incisivos bovinos, foram divididas em seis grupos de tratamento: grupo 1: controle, sem clareamento; grupo 2: nenhum tratamento antioxidante após o clareamento; grupo 3: solução de ascorbato de sódio 10% após o clareamento; grupo 4: ascorbato de sódio hidrogel 2,5% após o clareamento; grupo 5: ascorbato de sódio hidrogel 5% após o clareamento; grupo 6: ascorbato de sódio hidrogel 10% após o clareamento. O adesivo utilizado foi o Clearfil SE Bond e após restauração os espécimes foram submetidos ao ensaio de cisalhamento. A análise de fratura da superfície do esmalte foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópico. Os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney U-test foram utilizados para análise estatística. Enquanto os espécimes que não receberam tratamento com antioxidante após o clareamento (grupo 2) demonstraram menor resistência ao cisalhamento e os que utilizaram gel de ascorbato de sódio 10% (grupo 4) maior resistência, os demais grupos não apresentaram diferença estatística quando comparados ao grupo controle (grupo 1). Entre os grupos que utilizaram antioxidante, somente os grupos com ascorbato de sódio 10% (grupos 3 e 4) apresentaram maior resistência que o grupo 2 (clareado sem antioxidante). Os autores concluíram que o ascorbato de sódio hidrogel 10% pode ser usado em procedimentos clínicos, em substituição a forma de solução. No entanto, ascorbato de sódio hidrogel com concentração inferior a 10% pode não ser tão confiável para reverter à resistência de união comprometida.

Kimyai S, Valizadeh H. Comparison of the effect of hydrogel and a solution of sodium ascorbate on dentin-composite bond strength after bleaching. The Journal of Contemporary Dental Practice 2008; 9:105-12.

O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos da solução e hidrogel de ascorbato de sódio sobre a resistência ao cisalhamento da dentina após clareamento com peróxido de carbamida 10%. Sessenta superfícies vestibulares de dentina obtidas a partir de terceiros molares humanos hígidos foram divididas aleatoriamente em cinco grupos (n = 12). Grupo 1: sem tratamento, grupo 2: gel de peróxido de carbamida 10%, grupo 3: clareamento + sol. ascorbato de sódio 10%, grupo 4: clareamento + hidrogel de ascorbato de sódio 10%, grupo 5: clareamento + hidrogel ascorbato de sódio 20%. As superfícies de dentina foram restauradas com Single Bond e resina composta Z100. Os espécimes foram testados para resistência ao cisalhamento. Os dados obtidos foram analisados pela variância (ANOVA) e

teste Tukey. A resistência adesiva significativamente mais elevada foi observada subsequente ao tratamento com hidrogel e formas de solução de ascorbato de sódio. Não foram demonstradas diferenças significativas entre as formas de preparações de ascorbato de sódio. Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos com tratamento antioxidante (Grupos 3, 4 e 5) e Grupo 1 (sem tratamento). A redução da resistência adesiva à dentina clareada pode ser aumentada pelo uso do ascorbato de sódio como antioxidante, independente da forma utilizada, solução ou gel.

Freire A, Souza EM, de Menezes Caldas DB, Rosa EA, Bordin CF, de Carvalho RM, et al. Reaction kinetics of sodium ascorbate and dental bleaching gel. Journal of Dentistry, 2009; 37(12):932-6

Estudos recentes têm indicado o uso de antioxidante para eliminar problemas clínicos relacionados ao clareamento dental, geralmente envolvendo o emprego de ascorbato de sódio 10%, porém essa substância pode diferir quanto à natureza e concentração do agente clareador. O objetivo deste estudo foi determinar a massa requerida e o tempo ideal de aplicação de ascorbato de sódio como agente antioxidante, após clareamento dental com peróxido de hidrogênio 35%. O gel clareador foi submetido à ação do ascorbato de sódio quantificado por titulometria de oxirredução, metodologia baseada na Farmacopéia Americana (2005). Os resultados demonstraram haver relação direta entre a massa de ascorbato de sódio submetida à ação do gel clareador e a massa de ascorbato de sódio que reagiu com o peróxido de hidrogênio. Também revelou que variações no tempo de contato entre peróxido de hidrogênio e ascorbato de sódio não incrementaram a reação. A massa de ascorbato de sódio requerida para neutralizar o peróxido de hidrogênio é diretamente relacionada à sua concentração. A cinética de reação entre oxidante e antioxidante mostrou que um maior tempo de aplicação de ascorbato de sódio não influenciou a efetividade de reação e que 5 minutos é o tempo suficiente para aplicação do antioxidante. Este tempo parece ser clinicamente aceitável com a grande vantagem de eliminar a espera de duas a três semanas após o clareamento para realização de procedimentos adesivos.

8.2 MATERIAIS E MÉTODOS ESTENDIDO

Setenta dentes terceiros molares humanos extraídos (figura 1), obtidos do banco de dentes da PUCPR, foram utilizados neste estudo, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Todos os dentes apresentavam coroas hígidas e foram armazenados em água destilada a 4°C até a sua utilização, em um período que não excedeu um mês.

PREPARO DOS ESPÉCIMES

Inicialmente, os dentes tiveram suas raízes e esmalte oclusal removidos com auxílio de um disco diamantado (Struers A/S, Ballerup, Denmark) em cortadeira metalográfica de precisão (Struers A/S, Ballerup, Denmark) (figura 2). Então, foram fixados com godiva termoativada (Kerr Corporation, Orange, Califórnia, EUA) (figura 3) em uma placa de acrílico (40 mm X 40 mm X 5 mm) e, em seguida, quatro cortes longitudinais e um transversal foram feitos para obtenção de espécimes em dentina com dimensões de 4 mm X 4 mm X 2 mm (figura 4). As medidas foram determinadas com paquímetro digital (Mitutoyo, Utsonomiya, Tochigi Prefecture, Japão) (figura 5), e quando necessário, o espécime foi desgastado com lixa de carbetto de silício (3M, St. Paul, Minnesota, EUA) granulação 400 (figura 6) até a obtenção da área necessária. Cada dente deu origem a apenas um espécime.

GRUPOS

Os espécimes foram divididos em 8 grupos dispostos na Tabela 1. Os espécimes utilizados no grupo 1 (controle) foram também utilizados no grupo 2, uma vez que o grupo 1 não sofreu nenhum tipo de tratamento e o teste empregado não implicou em destruição do corpo-de-prova.

Tabela 1 – Grupos de acordo com os procedimentos realizados

Grupos	G	Procedimento clareador	Ascorbato de sódio 35%
1	0	nenhum	nenhum
2	0	H2O2 35%	nenhum
3	0	H2O2 35%	1 x 60 min
4	0	H2O2 35%	1 x 10 min
	0	H2O2 35%	2 x 10 min

5	0		
6	G 0	H2O2 35%	2 x 5 min
7	G 0	H2O2 35%	3 x 1 min
8	G 0	H2O2 35%	2 x 1 min

PROCEDIMENTO CLAREADOR

O gel clareador Whiteness HP Maxx (FGM, Joinville, SC, Brasil) (figura 7) foi selecionado para a realização do clareamento. A utilização do agente clareador seguiu as instruções do fabricante, ou seja, 3 aplicações de 15 min cada, totalizando 45 min de clareamento. Cada espécime recebeu uma quantidade de aproximadamente 0,15 g de gel para todo o procedimento (figura 8). Após o término das aplicações, os espécimes foram colocados em microtubos (Eppendorf Co., Hamburgo, Alemanha), de forma individualizada, para receberem duas lavagens sequenciais com 500 µL de água reagente grau 1 (Millipore Milli-Q academic system – Millipore Co., Bilerica, MA, EUA), durante 1 min, sob agitação (Rotary Shaker 3300 - Eppendorf Co., Hamburgo, Alemanha) (figura 9).

APLICAÇÃO DO ASCORBATO DE SÓDIO

Uma solução de ascorbato de sódio 35% (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA) com pH = 7,2, foi utilizada como antioxidante. Cada espécime recebeu 500 µL da solução sob agitação (Rotary Shaker 3300 - Eppendorf Co., Hamburgo, Alemanha) por tempo e número de aplicação pré-determinados (Tabela 1) (figura 11). Após o procedimento, os espécimes receberam duas lavagens com 500 µL de água ultrapura, durante 1 minuto cada, sob agitação (*eppendorf*®, Rotary Shaker 3300, Hamburg, Deutschland) (figura 12).

TESTE COLORIMÉTRICO

Inicialmente, soluções padrão foram feitas a partir de peróxido de hidrogênio 30% (Merck, Darmstadt, Alemanha), para permitir a comparação com o peróxido residual dos espécimes. Desta forma, por meio de diluição, foram obtidas soluções de peróxido com concentrações de 0,0005%; 0,0004%; 0,0002%; 0,0001%; 0,00005% e 0% (Figura 13).

Para medição do peróxido residual, os espécimes receberam 500 μ L de água reagente grau 1 e foram mantidos sob agitação durante 1 minuto. Após este período, foi realizada a extração de 100 μ L que foram aplicados em poços de uma microplaca com fundo chato (Nunc – Poly Sorp, Roskilde, Dinamarca), em triplicata por espécime. Em seguida 20 μ L de um tampão citrato pH 5,2, 6x concentrado com enzima peroxidase de rábano em uma concentração de 1,1 nM (HRP – Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA) e o cromógeno ortofenilenodiamino (OPD – Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA) foram adicionados aos poços previamente preenchidos da microplaca. Decorridos 4 min, a reação foi paralisada com 50 μ L de ácido sulfúrico 2M (Merck, Darmstadt, Alemanha) e a microplaca levada a um leitor Microplate Reader 680 (Bio-Rad Co., Hercules, CA, EUA) a 490 nm de comprimento de onda, em triplicata por espécime (Figura 15). As absorbâncias obtidas foram usadas para fazer uma curva de calibração e quantificar o peróxido de hidrogênio.

No grupo 2 foram realizadas medições diárias até a observação da ausência de peróxido residual. Desta forma, após a leitura imediatamente posterior ao procedimento clareador, os espécimes deste grupo receberam a alíquota de água reagente grau 1 como descrito inicialmente e permaneceram em estufa a 37 °C por 24 h, quando uma nova leitura foi realizada. Tal procedimento foi repetido até que não fosse mais detectado peróxido.

8.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A média dos valores de absorvância para cada grupo foi tabulada e testes estatísticos foram conduzidos com o pacote estatístico SPSS para Windows 13.0. O teste de Kruskal-Wallis, com nível de significância $\alpha = 0,05$, foi empregado para verificar as diferenças de peróxido residual presente nos grupos avaliados.

Tests of Normality(b,c,d,e,f,g,h)							
Grupo	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
clareamento - primeiro dia	0,16479972	10	0,20000	0,925904094	10	0,408833427	
clareamento - segundo dia	0,232388299	10	0,13432	0,91028679	10	0,282966777	
clareamento - terceiro dia	0,117537367	10	0,20000	0,965816827	10	0,849585129	
clareamento - quarto dia	0,249054243	10	0,07906	0,936626524	10	0,516121844	
clareamento - quinto dia	0,524085183	10	0,00000	0,365720627	10	1,00369E-07	
ascorbato 60 min 1X	0,244249871	10	0,09286	0,784503202	10	0,009392857	
ascorbato 10 min 1X	0,170819131	10	0,20000	0,945987316	10	0,621333252	

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

b Peróxido Residual is constant when Grupo = sem clareamento. It has been omitted.

c Peróxido Residual is constant when Grupo = clareamento - sexto dia. It has been omitted.

d Peróxido Residual is constant when Grupo = clareamento - sétimo dia. It has been omitted.

e Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 10 min 2X. It has been omitted.

f Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 5 min 2X. It has been omitted.

g Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 1 min 3X. It has been omitted.

h Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 1 min 2X. It has been omitted.

Test of Homogeneity of Variance(a,b,c,d,e,f,g)

Peróxido	Based on Mean	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
		28,8068275	6	63	0,00000
a	Peróxido Residual is constant when Grupo = sem clareamento. It has been omitted.				
b	Peróxido Residual is constant when Grupo = clareamento - sexto dia. It has been omitted.				
c	Peróxido Residual is constant when Grupo = clareamento - sétimo dia. It has been omitted.				
d	Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 10 min 2X. It has been omitted.				
e	Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 5 min 2X. It has been omitted.				
f	Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 1 min 3X. It has been omitted.				
g	Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 1 min 2X. It has been omitted.				

ESTATÍSTICAS DESCRITIVAS PERÓXIDO
RESIDUAL SEGUNDO GRUPO

Intervalo Confiança
95%

Grupo	n	Média	Mediana	Desvio Padrão	Erro Padrão	LI	LS
sem clareamento	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
clareamento - primeiro dia	10	0,074650	0,074100	0,009621	0,003042	0,067774	0,081526
clareamento - segundo dia	10	0,101910	0,105600	0,017886	0,005656	0,089128	0,114692
clareamento - terceiro dia	10	0,013570	0,013450	0,002311	0,000731	0,011918	0,015222
clareamento - quarto dia	10	0,000930	0,001000	0,000183	0,000058	0,000799	0,001061
clareamento - quinto dia	10	0,000210	0,000200	0,000032	0,000010	0,000187	0,000233
clareamento - sexto dia	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
clareamento - sétimo dia	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
ascorbato 60 min 1X	10	0,000400	0,000350	0,000249	0,000079	0,000222	0,000578
ascorbato 10 min 1X	10	0,001610	0,001750	0,000504	0,000159	0,001250	0,001970
ascorbato 10 min 2X	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
ascorbato 5 min 2X	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
ascorbato 1 min 3X	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
ascorbato 1 min 2X	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000

A variável Peróxido Residual não apresenta homogeneidade de variâncias entre grupos, uma vez que $p < 0,05$

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Grupo	N	Mean Rank
Peróxido Residual		
sem clareamento	10	35,5
clareamento - primeiro dia	10	126,55
clareamento - segundo dia	10	134,45
clareamento - terceiro dia	10	115,5
clareamento - quarto dia	10	96,05
clareamento - quinto dia	10	77,75
clareamento - sexto dia	10	35,5
clareamento - sétimo dia	10	35,5
ascorbato 60 min 1X	10	83,95
ascorbato 10 min 1X	10	104,25
ascorbato 10 min 2X	10	35,5
ascorbato 5 min 2X	10	35,5
ascorbato 1 min 3X	10	35,5
ascorbato 1 min 2X	10	35,5
Total	140	

Test Statistics(a,b)

Warnings
Peróxido Residual is constant when Grupo = sem clareamento. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
Peróxido Residual is constant when Grupo = clareamento - sexto dia. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
Peróxido Residual is constant when Grupo = clareamento - sétimo dia. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 10 min 2X. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 5 min 2X. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 1 min 3X. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
Peróxido Residual is constant when Grupo = ascorbato 1 min 2X. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

Peróxido Residual

Chi-Square
df

138,0861151

13

Valor p 0,000000
 a Kruskal Wallis Test
 b Grouping Variable: Grupo

Grupos	sem clareamento	clareamento - primeiro dia	clareamento - segundo dia	clareamento - terceiro dia	clareamento - quarto dia
Média	0,0000	0,0747	0,1019	0,0136	0,0009
sem clareamento		0,000047	0,000004	0,000938	0,076726
clareamento - primeiro dia	0,000047		1,000000	1,000000	1,000000
clareamento - segundo dia	0,000004	1,000000		1,000000	1,000000
clareamento - terceiro dia	0,000938	1,000000	1,000000		1,000000
clareamento - quarto dia	0,076726	1,000000	1,000000	1,000000	
clareamento - quinto dia	1,000000	0,649374	0,161269	1,000000	1,000000
clareamento - sexto dia	1,000000	0,000047	0,000004	0,000938	0,076726
clareamento - sétimo dia	1,000000	0,000047	0,000004	0,000938	0,076726
ascorbato 60 min 1X	0,687917	1,000000	0,488373	1,000000	1,000000
ascorbato 10 min 1X	0,013692	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
ascorbato 10 min 2X	1,000000	0,000047	0,000004	0,000938	0,076726
ascorbato 5 min 2X	1,000000	0,000047	0,000004	0,000938	0,076726
ascorbato 1 min 3X	1,000000	0,000047	0,000004	0,000938	0,076726
ascorbato 1 min 2X	1,000000	0,000047	0,000004	0,000938	0,076726

clareamento - quinto dia	clareamento - sexto dia	clareamento - sétimo dia	ascorbato 60 min 1X	ascorbato 10 min 1X	ascorbato 10 min 2X	ascorbato 5 min 2X	ascorbato 1 min 3X	ascorbato 1 min 2X
0,0002	0,0000	0,0000	0,0004	0,0016	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
1,000000	1,000000	1,000000	0,687917	0,013692	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
0,649374	0,000047	0,000047	1,000000	1,000000	0,000047	0,000047	0,000047	0,000047
0,161269	0,000004	0,000004	0,488373	1,000000	0,000004	0,000004	0,000004	0,000004
1,000000	0,000938	0,000938	1,000000	1,000000	0,000938	0,000938	0,000938	0,000938
1,000000	0,076726	0,076726	1,000000	1,000000	0,076726	0,076726	0,076726	0,076726
	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
1,000000		1,000000	0,687917	0,013692	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
1,000000	1,000000		0,687917	0,013692	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
1,000000	0,687917	0,687917		1,000000	0,687917	0,687917	0,687917	0,687917
1,000000	0,013692	0,013692	1,000000		0,013692	0,013692	0,013692	0,013692
1,000000	1,000000	1,000000	0,687917	0,013692		1,000000	1,000000	1,000000
1,000000	1,000000	1,000000	0,687917	0,013692	1,000000		1,000000	1,000000
1,000000	1,000000	1,000000	0,687917	0,013692	1,000000	1,000000		1,000000
1,000000	1,000000	1,000000	0,687917	0,013692	1,000000	1,000000	1,000000	

9. ANEXOS

9.1 NORMAS DA REVISTA

The requirements for submission are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," *Annals of Internal Medicine*, 1977, 126, 36-47.

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for *Journal of Dentistry*. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the editor. Editors can manage the whole submission/review/revise/publish process. Please register at: <http://ees.elsevier.com/jjod>

Authors unable to submit online should contact the Editorial office: Marie Dymond, Journal Manager, *Journal of Dentistry*, Elsevier, Bampfylde Street, Exeter, UK, EX1 2AH. JOD@elsevier.com TEL: +44 (0)1392 285809 Fax: +44 (0)1865 853132.

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

- Original Research Reports: maximum length 6 printed pages approximately 20 typescript pages, including illustrations and tables.
- Review articles: maximum length 10 printed pages, approximately 33 typescript pages, including illustrations and tables.
- Short communication for rapid publication: maximum length 2 printed pages, approximately 7 typescript pages, including illustrations.
- Letters providing informed comment and constructive criticism of material previously published in the *Journal*.

Authors are urged to write as concisely as possible.

Articles should be arranged in the following order. Title, Summary, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Tables and Legends to Illustrations.

Summary: should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives, Methods; Results; Conclusions (For Reviews: Objectives; Data;

Sources; Study selection; Conclusions). These subheadings should appear in the text of the summary. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

Introduction: must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question; the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue; and the aims and objectives of the research being reported.

Keywords: up to 10 keywords should be supplied.

Abbreviations and acronyms: terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

Units: SI units should be used throughout. If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.

The complete names of individual teeth must be given in the text. In tables and legends for illustrations individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

Illustrations: The following are acceptable ways to present illustrations: white card or plastic; high quality computer generated line drawings; unmounted glossy photographs.

Illustrations should be clearly labelled on the back with the title of the article, the figure number and an arrow to indicate the top edge.

When preparing illustrations authors should consider that the majority of illustrations will be reduced to the width of a single column (approximately 85 mm). Authors can indicate if they feel an illustration should be full page width.

All typescripts must be accompanied by a Permission Note. This is a letter signed by each author (not just the corresponding author), affirming that the paper has been submitted solely to Journal of Dentistry and that it is not concurrently under consideration for publication in another journal. All of the named authors should have been involved in the

work leading to the publication of the paper and should have read the paper before it is submitted for publication.

Offprints and page charges: no page charges are levied on articles published in Journal of Dentistry. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

The Editor and Publisher reserve the right to make such corrections to typescripts as may be necessary for clarity of expression, or to conform to the style required.

Notes for Typescript Preparation

- To facilitate anonymity the authors' names and any reference to their addresses should only appear on the title page.

The title page should contain the following information:

- Title of paper
- Short title
- Name(s) and address(es) of author(s)
- Name, address, telephone, fax and e-mail of the corresponding author
- Up to 10 keywords

Spelling: International English.

Legends to illustrations should be typed on a separate sheet.

References: These should appear in the text in numerical order and should follow a modified form of the Vancouver Reference system (details may be found at External link <http://www.icmje.org/index.html#reference>). Please note that the house style of the Journal of Dentistry is different from the standard Vancouver reference style in that it includes:

- to refer to the name of the Journal in full
- to put the name of the Journal in Italics

- to put the volume number in bold

Examples as follows

Burrow MF, Tagami J, Negishi T. Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems. *Journal of Dental Research* 1994; **74**:522-28. Phillips SJ, Whisnant JP. The role of dentine under restorations. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *The science of restorative dentistry*. 2nd ed. Oxford: Elsevier; 2003. p.266-78.

If there are seven or more authors please list the first six and et al., otherwise list all authors. Journal titles should be given in full.

Randomised controlled trials: All randomised controlled trials submitted for publication in *Journal of Dentistry* should include a completed Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) flow chart. Please refer to the CONSORT statement website at External link <http://www.consort-statement.org> for more information. *Journal of Dentistry* has adopted the proposal from the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) which require, as a condition of consideration for publication of clinical trials, registration in a public trials registry. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. For this purpose, a clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration. Further information can be found at External link <http://www.icmje.org>

Disclosure of Clinical Trial Results: In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors , the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the

results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (eg, investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

Patient consent: Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent which should be documented in your paper. Patients have a right to privacy. Therefore identifying information, including patients' images, names, initials, or hospital numbers, should not be included in videos, recordings, written descriptions, photographs, and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and you have obtained written informed consent for publication in print and electronic form from the patient (or parent, guardian or next of kin where applicable). If such consent is made subject to any conditions, Elsevier must be made aware of all such conditions. Written consents must be provided to Elsevier on request. Even where consent has been given, identifying details should be omitted if they are not essential. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic pedigrees, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning and editors should so note. If such consent has not been obtained, personal details of patients included in any part of the paper and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Proofs: Proofs will be sent to the author (first-named author if no corresponding author is identified on multi-authored papers) by PDF wherever possible and should be returned within 48 hours of receipt, preferably by e-mail. Corrections should be restricted to typesetting errors; any other amendments made may be charged to the author. Any queries should be answered in full. Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are returned to us in one all-inclusive e-mail or fax. Subsequent additional corrections will not be possible, so please ensure that your first communication is complete.

Should you choose to mail your corrections, please return them to: Log-in Department, Elsevier, Stover Court, Bampfylde Street, Exeter, Devon EX1 2AH, UK.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit [External link](http://www.elsevier.com/fundingbodies) <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

9.2 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA