

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

FACULDADE DE MEDICINA

2009

**EFEITOS DE UM PRODUTO DE BRANQUEAMENTO
DENTÁRIO À BASE DE PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO
A 6% NA MUCOSA GÁSTRICA DE RATOS.**

Anabela Baptista Pereira Paula

**Dissertação de candidatura ao grau de Mestre apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de Coimbra, 2009**

Orientadores:

Professora Doutora Eunice Virgínia Palmeirão Carrilho

Professora Doutora Maria Isabel Ribeiro Dias

Coordenador:

Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita

Trabalho realizado no Instituto de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

A Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra não aceita qualquer responsabilidade em relação à doutrina ou à forma desta dissertação (Regimento da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, 1931, Art. 108, § único).

**Ao João
À Dudinha
Aos meus pais**

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta tese é o resultado da contribuição de um conjunto de pessoas, às quais quero fazer um agradecimento especial.

Estou particularmente grata às minhas orientadoras.

À Professora Doutora Eunice Virgínia Palmeirão Carrilho, reconheço com muita gratidão o apoio e incentivo permanentes, e é com privilégio que recebo todos os ensinamentos científicos e clínicos que me dispensou. A sua disponibilidade permanente foi fundamental e determinante para a elaboração desta dissertação. Espero continuar a merecer a sua confiança e amizade.

À Professora Doutora Maria Isabel Ribeiro Dias, agradeço os conhecimentos científicos que me legou, e o seu apoio e disponibilidade constantes e fundamentais ao longo das diversas etapas da elaboração desta dissertação.

Ao Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita, o meu reconhecimento pela forma como me transmitiu o seu profundo conhecimento em investigação científica, e pela sua constante disponibilidade para a edificação deste trabalho de experimentação animal desde a sua concepção até à elaboração da dissertação.

Ao Professor Doutor Jorge Manuel Teixeira de Azevedo, Professor Catedrático, Vice-reitor para as Actividades Académicas da UTAD, pelo seu apoio no tratamento estatístico dos dados, e pela sua disponibilidade nesta fase da elaboração desta dissertação.

À Dr^a. Karen Pena e ao Dr^o José do Carmo Silva pela colaboração imprescindível e inesgotável na fase experimental do estudo.

À Sr. D. Margarida Menezes e à Sr. D. Elisa Patrício, funcionárias do Instituto de Patologia Experimental, pela ajuda técnica no processamento das amostras.

Gostaria, também, de agradecer aos meus colegas da disciplina de Dentistaria Operatória, pelo seu apoio e acrescido suporte de trabalho causados pela minha ausência durante o período de dispensa do meu trabalho de docência.

Por último, à minha família, pelo amor, paciência, apoio e incentivo que me dedicaram durante todos estes meses.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO

1.1. ALTERAÇÕES CROMÁTICAS DENTÁRIAS

1.1.1 - Colorações pré-eruptivas (durante a odontogénese)

1.1.2 - Colorações pós-eruptivas (depois da odontogénese)

1.2. DIAGNÓSTICO E PLANO DE TRATAMENTO

1.3. HISTÓRIA

1.4. COMPOSIÇÃO DOS MATERIAIS DE BRANQUEAMENTO

1.4.1 – Peróxido de carbamida

1.4.2 – Peróxido de hidrogénio

1.4.3 – Perborato de sódio e outros produtos

1.4.4 – Agentes espessantes

1.4.5 – Ureia

1.4.6 – Veículo

1.4.7 – Surfactante e pigmentos dispersantes

1.4.8 – Conservantes

1.4.9 – Aromatizantes

1.5. MECANISMO DE ACÇÃO

1.5.1 – Peróxido de carbamida

1.5.2 – Peróxido de hidrogénio

1.5.3 – Perborato de sódio

1.6. TERAPÊUTICAS DE BRANQUEAMENTO

1.6.1 – Terapêutica de branqueamento em consultório

1.6.2 – Terapêutica de branqueamento em ambulatório

1.7. ALTERAÇÕES DOS TECIDOS DENTÁRIOS E ORAIS

1.7.1 – Efeitos sobre o esmalte

1.7.2 – Efeitos sobre a dentina

1.7.3 – Efeitos sobre a polpa

1.7.4 – Efeitos sobre o cimento

1.7.5 – Efeitos sobre a gengiva e mucosa oral

1.8. OUTROS EFEITOS LOCAIS E SISTÉMICOS

1.8.1 – Efeitos nos materiais de restauração

1.8.2 – Efeitos sobre a mucosa esofágica, gástrica e intestinal

1.8.3 – Efeitos carcinogénicos ou citotóxicos

1.9. CONSIDERAÇÕES LEGAIS

2 – ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL

2.1. OBJECTIVOS DO ESTUDO

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 – Animais e condições de experimentação

2.2.2 – Materiais

2.2.3 – Protocolo Experimental

2.2.3.1 – Indução de patologia gástrica não tumoral

2.2.3.2 – Procedimentos terapêuticos

2.2.3.3 – Eutanásia

2.2.3.4 – Recolha das amostras

2.2.3.5 – Processamento das amostras

2.2.3.6 – Método de análise

2.2.3.7 – Análise estatística dos dados

2.3. RESULTADOS

2.3.1 – Evolução clínica

2.3.2 – Observação macroscópica no final do estudo

2.3.3 – Observação em microscopia de Luz

3 - DISCUSSÃO

4 - CONCLUSÕES

5 - RESUMO

6 - BILIOGRAFIA

7 – APÊNDICES

8 – INDICE GERAL

LISTA DE TABELAS, FIGURAS e GRÁFICOS

1. TABELAS

Tabela 1 – Valores das doses de peróxido de hidrogénio a 6% e de álcool a 50% administradas consoante o peso do animal ao longo do trabalho experimental.

Tabela 2 – Resultados dos pesos dos animais ao longo do trabalho experimental.

Tabela 3 – Resultados estatísticos com os valores da média \pm SE dos pesos dos animais dos vários grupos experimentais ao longo do tempo do estudo e comparação de pares de médias.

Tabela 4 – Resultados estatísticos da análise de variância do peso dos animais dos vários grupos experimentais ao longo do trabalho experimental com contrastes.

Tabela 5 – Resultados das dimensões (comprimento, largura e profundidade) do baço e peso do mesmo.

Tabela 6 – Resultados da comparação dos pesos animal e baço.

Tabela 7 – Resultados da análise estatística para a comparação dos pesos de animal e do baço.

Tabela 8 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica.

2. FIGURAS

Figura 1 – Produto de branqueamento Colgate® “Visible White”™ – estojo comercial

Figura 2 – Frasco de etanol a 50%.

Figura 3 – Rato macho albino da estirpe “Wistar Han”

Figura 4 – Necrópsia. Posicionamento do animal.

Figura 5 – Necrópsia. Incisão fúrculo-púbica.

Figura 6 – Necrópsia. Recolha de língua do animal.

Figura 7 – Esófago e estômago após remoção e limpeza

Figura 8 – Remoção do fígado do animal para amostra.

Figura 9 – Recolha do fígado e rim para amostra.

Figura 10 – Remoção de glândula suprarrenal do animal para amostra.

Figura 11 – Aspecto macroscópico de pulmão.

Figura 12 – Colheita de baço para efectuar pesagem e medições

Figura 13 – Observação macroscópica do esófago.

Figura 14 – Aspecto da mucosa gástrica de um animal do grupo I.

Figura 15 – Aspecto da mucosa gástrica de um animal do grupo II.

Figura 16 - Aspecto da mucosa gástrica de dois animais do grupo III.

Figura 17 - Aspecto da mucosa gástrica de três animais do grupo IV.

Figura 18 - Aspecto da mucosa gástrica de dois animais do grupo V, subgrupo A.

Figura 19 - Aspecto da mucosa gástrica de um animal do grupo V, subgrupo B.

Figura 20 - Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do grupo II, subgrupo A.

Figura 21 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do grupo II, subgrupo B.

Figura 22 - Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do grupo III.

Figura 23 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do grupo IV.

Figura 24 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do grupo V, subgrupo A.

Figura 25 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do grupo V,

subgrupo B.

Figura 26 – Fórmula de cálculo do factor de segurança (Dahl *et al*, 2003).

Figura 27 – Exposições ao peróxido de hidrogénio durante 2 horas numa terapêutica de branqueamento de uma arcada dentária com moldeiras individualizadas, e os seus factores de segurança correspondentes.

3. GRÁFICOS

Gráfico 1 – Resultados da análise de variância do peso dos animais de todos os grupos experimentais ao longo do tempo do estudo.

Gráfico 2 – Resultados em percentagem da comparação da relação dos pesos do animal e do baço.

Gráfico 3 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro - Aspecto normal em toda a sua extensão.

Gráfico 4 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação.

Gráfico 5 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Apagamento das pregas da mucosa.

Gráfico 6 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Áreas macroscopicamente correspondentes a hemorragia.

Gráfico 7 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Áreas macroscopicamente correspondentes a necrose/úlceras.

1 - INTRODUÇÃO

A valorização da estética e a pressão social condicionam, cada vez mais, as prioridades e as exigências dos doentes. O branqueamento dentário tornou-se, assim, uma terapêutica frequente pretendendo-se que possa tratar a maior parte das alterações cromáticas dentárias.

Independentemente do factor etiológico que origine esta situação clínica, o escurecimento de um único dente anterior ou de um grupo de dentes, na maioria das vezes, interfere negativamente com a aparência de um sorriso. A cor da estrutura dentária, apesar de ser apenas um dos vários factores que contribuem para o equilíbrio estético do sorriso, constitui o factor isolado mais importante neste equilíbrio, já que a desarmonia de cor é mais imediata e rapidamente percebida do que as outras anormalidades estéticas (Haywood *et al*, 1989; Baratieri *et al*, 1993).

A resolução desta situação clínica nem sempre é fácil e simples, especialmente quando apenas um dente anterior apresenta uma coloração mais escura do que os outros. Além da abordagem restauradora, o médico dentista pode, em casos seleccionados nos quais a estrutura dentária está predominantemente preservada, optar pela reversão da alteração de cor recorrendo à aplicação de terapêuticas de branqueamento dentário (Callabero *et al*, 2006; Christensen, 2006).

O branqueamento dentário realizado com um agente químico oxidante instável tem sido, desde há muito tempo, uma alternativa conservadora para a recuperação da estética em dentes vivos e com terapêuticas endodônticas com alterações cromáticas. No entanto, todas as terapêuticas de branqueamento, nos moldes em que são conhecidas e praticadas hoje, apresentam inúmeras complicações e limitações que podem e devem ser conhecidas para que se possam evitar. (Baratieri *et al*, 1993)

Talvez a limitação mais significativa dos procedimentos branqueadores seja a sua natureza pouco previsível, a qual corresponde a uma incerteza do sucesso do tratamento. Além disso, no caso de se obter um sucesso clínico imediato com a terapêutica de branqueamento dentário, a longevidade deste resultado não pode ser

estabelecida com precisão. No entanto, mesmo conhecendo estas limitações, quando possível e indicado, a maioria dos médicos dentistas elaboram planos de tratamento que se baseiam em procedimentos menos invasivos, sem desgaste da estrutura dentária, mesmo que a sua durabilidade seja menor e menos previsível do que uma abordagem restauradora (Baratieri *et al*, 1993).

1.1. ALTERAÇÕES CROMÁTICAS DENTÁRIAS

As alterações cromáticas dentárias são um problema comum, podem ocorrer em várias faixas etárias e em ambas as dentições, quer na primária, quer na definitiva. A etiologia destas alterações é multifactorial, podendo ocorrer diferentes colorações no mesmo dente (Dahl *et al*, 2003).

Os dentes são policromáticos, com a variação de cor desde a zona gengival até à zona incisal do dente, de acordo com a espessura dos vários tecidos dentários ao longo da estrutura do mesmo, de acordo com as camadas de esmalte e dentina. A cor de um dente são é determinada primariamente pela dentina e modificada pela cor, espessura e translucidez do esmalte que a recobre (Busato *et al*, 2002).

Existem várias classificações para a etiologia das descolorações dentárias. A maioria dessas classificações baseia-se em colorações extrínsecas, que incluem todas aquelas provocadas por pigmentos ou lesões no esmalte; e em colorações intrínsecas, que se referem às originadas por agentes pigmentadores que penetram na estrutura interna do dente. Algumas colorações dentárias são multifactoriais, combinando estes dois tipos de colorações. As extrínsecas são definidas como pigmentações que podem ser removidas facilmente com uma escovagem profiláctica, enquanto que as intrínsecas não endógenas, tendo incorporado pigmentos na matriz da estrutura dentária, não podem ser removidas com métodos profilácticos (Busato *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003).

Ao longo da década de 90 surgiram algumas classificações modificadas, mais

didáticas, que diferenciam as colorações em pré-eruptivas, que ocorrem durante a odontogénese; e as pós-eruptivas, que ocorrem após a odontogénese.

1.1.1 - Colorações pré-eruptivas (durante a odontogénese)

As colorações pré-eruptivas alteram o desenvolvimento e o aspecto do esmalte e da dentina nos dentes decíduos e permanentes.

A amelogénese imperfeita por hipomineralização, a hipoplasia ou aplasia; a dentinogénese imperfeita; a displasia dentinária ou os dentes em cápsula caracterizam-se como defeitos no desenvolvimento do esmalte e da dentina. Dependendo da severidade das anomalias durante a odontogénese e da extensão da displasia, a superfície do esmalte pode ser sujeita a terapêuticas de branqueamento com diferentes graus de sucesso clínico (Busato *et al*, 2002; Rotstein, 1998), embora na maioria destas situações clínicas a terapêutica de branqueamento esteja contra-indicada.

A fluorose é um tipo de coloração provocada pela ingestão ou contacto excessivo de flúor durante o desenvolvimento das diferentes camadas do esmalte (Dale *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003). Este consumo excessivo pode ser por ingestão excessiva de comprimidos de flúor, de água fluoretada ou dentífricos com flúor (Tredwin *et al*, 2005). Este tipo de coloração ocorre na camada superficial do esmalte, definindo-se como manchas brancas ou castanhas com formas irregulares. Embora ocorram durante a fase pré-eruptiva, só se manifestam após a erupção dentária, depois de se estabelecer contacto entre a superfície muito porosa do esmalte e os corantes químicos presentes na cavidade oral (Bussadori *et al*, 2004; Dale *et al*, 2002; Rotstein, 1998). A severidade e o grau de coloração estão directamente relacionados com a quantidade de flúor ingerido durante a odontogénese (Rodriguez *et al*, 2003).

As tetraciclinas, quando administradas durante a odontogénese provocam colorações severas dos dentes em ambas as dentições (Dahl *et al*, 2003; Tredwin *et al*, 2005).

Este tipo de coloração ocorre devido à quelação da molécula de tetraciclina com os íons de cálcio dos cristais de hidroxiapatite, sendo incorporada tanto no esmalte como na dentina. As colorações por tetraciclinas podem ser classificadas de acordo com o estado de desenvolvimento na odontogénese, a formação de bandas e a sua cor. Todos os tipos e graus de colorações por tetraciclinas tornam-se mais intensas com a exposição crónica à luz, quer artificial, quer natural (Busato *et al*, 2002). A gravidade destas pigmentações depende do tempo ou duração da administração, do tipo de tetraciclina administrada, da dose e via de administração utilizada (Dale *et al*, 2002; Shearer, 1991; Tredwin *et al*, 2005) e do estadio de desenvolvimento do dente exposto à molécula (Dale *et al*, 2002; Leonard *et al*, 1999). A terapêutica de branqueamento pode ser bem sucedida, mas a sua duração é longa (3 a 6 meses) (Leonard *et al*, 2003). O aparecimento deste tipo de colorações pode ser prevenido, evitando a prescrição de tetraciclinas desde o 2º trimestre de gravidez até aos 8 anos de idade (Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002, Tredwin *et al*, 2005).

Durante a odontogénese podem ainda surgir outras colorações provocadas por traumatismos (Dahl *et al*, 2003) ou por medicação para várias patologias, como são exemplo, as deficiências vitamínicas, a fenilcetonúria, a porfíria, a talassémia, a eritroblastose fetal e a anemia hemolítica ou bilirrubinemia (Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002).

1.1.2 - Colorações pós-eruptivas (depois da odontogénese)

As colorações pós-eruptivas ocorrem após a odontogénese, podendo ser consideradas intrínsecas ou extrínsecas. Estas últimas são caracterizadas pela deposição de elementos sobre a superfície dentária, quer durante o período eruptivo como um depósito sobre a membrana de Nasmyth, quer por impregnação da película mucinosa (Dale *et al*, 2002).

A prescrição de minociclina (tetraciclina de 2ª geração) a adultos ou adolescentes pode desenvolver pigmentações intrínsecas da estrutura dentária, da gengiva, da mucosa oral e dos tecidos ósseos (Bowles *et al*, 1997; Tredwin *et al*, 2005). Este risco é considerável quando a administração de minociclina é feita por via oral, pois a sua concentração na saliva é 30% a 60% da sua concentração sérica. Esta coloração da estrutura dentária deve-se à ligação da molécula com o ferro, formando complexos insolúveis, ou, eventualmente, à sua ligação com a dentina secundária. Esta coloração não é transitória, não desaparecendo com a descontinuidade da terapêutica medicamentosa.

As alterações pulpares são outras causas de colorações intrínsecas. A necrose pulpar pode ocorrer por infecção bacteriana, por trauma mecânico ou químico sobre o tecido pulpar (Dahl *et al*, 2003). Após a necrose pulpar, a coloração ocorre devido à infiltração dos túbulos dentinários, quer por compostos derivados da degradação orgânica do tecido pulpar (por exemplo sulfato de ferro derivado da hemorragia pulpar), quer por substâncias químicas utilizadas durante o tratamento endodôntico (como o eugenol ou cones de prata) (Dale *et al*, 2002).

Outra situação clínica é a hipercalcificação da dentina que ocorre por deposição de dentina irregular sobre as paredes da câmara pulpar, levando a uma diminuição da translucidez do dente, resultando numa coloração amarelada ou amarelo-acastanhada (Busato *et al*, 2002).

A cárie dentária presente quer na primeira dentição, quer na segunda dentição, pode conferir uma descoloração em áreas da estrutura dentária onde ocorreu estagnação bacteriana, ou infiltração de restaurações existentes. Lesões de cárie inactivas podem apresentar colorações acastanhadas devido à degradação de substâncias que interagem com a dentina (Kleter, 1998).

Existem alguns materiais de restauração que provocam colorações da estrutura dentária. O amálgama pode causar uma coloração cinza devido aos sais de prata que são incorporados nos túbulos dentinários, ou aos produtos derivados da corrosão do

mesmo (Dale *et al*, 2002; Kidd, 1995). Esta coloração acinzentada pode, também, ter como causa a utilização de espigões metálicos ou de carbono. A coloração amarelada deve-se à colocação de espigões dentinários na coroa dentária.

A idade é um factor que pode levar a modificações intrínsecas da cor da estrutura dentária (Dahl *et al*, 2003; Kugel *et al*, 2000; Watts *et al*, 2001). Existem diversas alterações nos tecidos dentários que levam a estas modificações, como a alteração da espessura e textura do esmalte, a deposição de dentina secundária e terciária e os cálculos pulpares (Ferrari *et al*, 2004; Goo *et al*, 2004). A composição da saliva também sofre modificações com o aumento da idade, contribuindo para o aparecimento de colorações dentárias (Watts *et al*, 2001).

Algumas alterações funcionais e parafuncionais das relações intermaxilares podem dar origem a um aumento do desgaste da estrutura dentária, com perda de tecido superficial, modificando a coloração do dente. Dentro destas alterações podem ser descritas a erosão, a atricção, a abrasão e a abfração que provocam perda dos bordos incisais e exposição de dentina; a deposição de dentina reparadora; o aparecimento de linhas de fractura, entre outras consequências. A modificação de cor e da textura de superfície, afectam as propriedades ópticas da estrutura dentária (Busato *et al*, 2002).

Existem colorações extrínsecas que são adquiridas por pigmentos que se depositam diariamente sobre a estrutura dentária, mas que podem ser removidos com intervenções profilácticas. Como exemplos temos a placa bacteriana resultante da má higiene; a nicotina; algumas bebidas como o café, o chá, o vinho tinto e os refrigerantes (Collins *et al*, 2004; Dale *et al*, 2002; Godoy *et al*, 2004; Goo *et al*, 2004; Jugel *et al*, 2000; Watts *et al*, 2001; Walsh *et al*, 2005). Estas alterações cromáticas podem ainda ser encontradas em alguns doentes com boa higiene oral, mas com uma alimentação tipicamente mediterrânica (Goo *et al*, 2004) e em nadadores com cálculos dentários quando expostos prolongadamente à água de piscina.

Algumas substâncias químicas podem também provocar colorações extrínsecas. Os colutórios com clorhexidina (Eley, 1999) podem pigmentar de negro ou castanho, estando este efeito aumentado quando associado ao consumo de café e chá (Addy, 1985; Busato *et al*, 2002; Goo *et al*, 2004). Alguns autores referem o contacto com alguns metais (cobre, ferro e níquel) como causa de colorações dentárias. Este pode ocorrer através da ingestão dos mesmos na água, do contacto cutâneo, das vias aéreas ou da mucosa oral (utilização de aparelhos ortodônticos) (Donoghue *et al*, 1996).

Antes de iniciar uma terapêutica de branqueamento dentário é essencial a elaboração de uma história clínica extensa para determinar a etiologia das colorações observadas.

1.2. DIAGNÓSTICO E PLANO DE TRATAMENTO

No planeamento de uma terapêutica de branqueamento ou de outras terapêuticas estéticas é essencial compreender adequadamente as necessidades, objectivos e expectativas do paciente. Para este pressuposto ser conseguido é fundamental uma correcta e cuidada história clínica médica, bem como a história e avaliação clínica dentária e intraoral. A intervenção do doente é, também, extremamente importante, no sentido da aprovação da terapêutica com o conhecimento dos riscos e benefícios, vantagens e desvantagens (Busato *et al*, 2002).

Deve ser elaborado um questionário para avaliar as aspirações e expectativas dos doentes acerca do seu sorriso. A informação obtida a partir deste questionário vai consistir a base para o médico dentista avaliar os problemas, assim como avaliar sumariamente as principais características da personalidade do doente, elaborando o plano de tratamento mais adequado.

A história clínica médica pode ser breve e generalizada, abordando mais

especificamente a questão das possíveis alergias ao produto de branqueamento activo, ou à resina com que são efectuadas as moldeiras para colocação do produto, ou alguma outra substância presente na fórmula comercial do produto de branqueamento utilizado. A profissão, os hábitos e vícios do doente também são importantes, devido ao risco de exposição a produtos que interajam com os materiais de branqueamento. São exemplo alguns compostos químicos, o tabaco, o álcool e drogas e, ainda alguns hábitos alimentares (alimentos com substâncias pigmentadoras e/ou erosivas) (Carrilho, 2002).

A história clínica dentária deve avaliar várias vertentes como sejam: a atitude do paciente perante as terapêuticas dentárias e a sua saúde dentária; experiências anteriores face aos diversos tratamentos dentários e as suas expectativas. O exame clínico deve abordar a avaliação extraoral, nomeadamente disfunções temporo-mandibulares e a avaliação intraoral, observando a estrutura dentária dos vários dentes envolvidos, a saúde periodontal e dos tecidos moles. Nesta devem ser diagnosticadas gengivites, periodontites, recessões gengivais, a presença de infiltração marginal das restaurações e a existência de sensibilidade dentária. Existem alguns exames complementares que podem ter um contributo importante no diagnóstico das patologias referidas, os testes de vitalidade e sensibilidade, e as radiografias intra-orais periapicais. Nos dentes com terapêuticas endodónticas o selamento apical deve estar contemplado, para que possam ser sujeitos a terapêuticas de branqueamento (Busato *et al*, 2002). As fotografias intra-orais devem ser sempre obtidas antes e após a terapêutica, com a inclusão da cor referenciada através de uma escala padronizada de cores, podendo eventualmente ser úteis numa fase de diagnóstico e plano de tratamento (Carrilho, 2002).

A definição da etiologia das colorações e o seu diagnóstico é importante para estabelecer um adequado plano de tratamento, avaliando a necessidade absoluta de intervenção, ou, por outro lado, a sua simples resolução com procedimentos profilácticos (Busato *et al*, 2002).

1.3. HISTÓRIA

As alterações cromáticas dentárias são uma preocupação dos médicos dentistas desde há mais de 200 anos. No Egito e na Roma Antiga realizavam-se branqueamentos dentários com recurso a vinagre e abrasivos e, até mesmo, urina (Dirceu Vieira *et al*, 2003). Nos finais do século XIX foram utilizados vários métodos e substâncias químicas para remover todos os tipos de colorações. Muitos foram os que tentaram inovar, mas as técnicas e materiais de branqueamento dentário eram considerados experimentais e imprevisíveis e, quando se obtinham alguns resultados, as recidivas eram frequentes. A maioria das terapêuticas de branqueamento era realizada em dentes sem vitalidade com substâncias químicas cáusticas, como peróxido de éter, dióxido de hidrogénio (peróxido de hidrogénio ou peridrol), peróxido de sódio, hipofosfato de sódio, entre outros (Vieira *et al*, 2003). Estes produtos de branqueamento eram classificados de acordo com o tipo de colorações nas quais eram eficazes (Dale *et al*, 2002; Touati *et al*, 1999).

No início do século XX foi introduzido o peróxido de hidrogénio a 35%, utilizado inicialmente no tratamento de gengivites e diversas inflamações dos tecidos moles, mostrou-se eficaz na melhoria da coloração dentária. Este composto foi frequentemente utilizado no branqueamento de dentes vivos e sem vitalidade. A técnica original de branqueamento destes últimos, utilizava o agente de branqueamento na superfície externa do esmalte, esperando que o produto penetrasse através do esmalte dentário. Os resultados eram limitados, e só melhoraram quando os produtos começaram a ser colocados no interior da câmara pulpar (Goldstein *et al*, 1995).

Spasser em 1961, descreve pela primeira vez a terapêutica que ficou conhecida como a técnica de branqueamento interno. Nesta, o produto era colocado na câmara pulpar uma mistura de perborato de sódio e água, durante uma semana (Busato *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003; Oliveira *et al*, 2003; Touati *et al*, 1999).

Nutting e Poe em 1963 e 1967 respectivamente, descrevem uma versão modificada da técnica de branqueamento interno, utilizando perborato de sódio com peróxido de

hidrogénio a 30%, com um efeito de sinergismo, e conhecida por a técnica de branqueamento interno combinada (Busato *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003; Oliveira *et al*, 2003; Touati *et al*, 1999).

Em 1965 Stewart descreve uma nova técnica designada por termocatalítica, que consiste na colocação de um composto químico oxidante na câmara pulpar, seguida da aplicação de calor com um instrumento sobre o composto ou na superfície vestibular dentária (Busato *et al*, 2002). Esta foi, mais tarde, utilizada por Howell, combinando vários produtos: o hipoclorito de sódio, o perborato de sódio e o peróxido de hidrogénio, com ou sem a aplicação de calor (Dahl *et al*, 2003; Dale *et al*, 2002; Touati *et al*, 1999).

Haywood e Heymann em 1989, introduziram uma técnica de branqueamento para dentes com vitalidade, em ambulatório e durante a noite. Utilizaram peróxido de carbamida a 10% (fórmula inicial do peróxido de hidrogénio) colocado numa moldeira individualizada. Esta terapêutica aplicada durante várias semanas ou até meses, de acordo com o tipo de colorações, é ainda praticada (Haywood *et al*, 1989; Touati *et al*, 1999).

A terapêutica mais recente e actualmente recomendada para dentes sem vitalidade é a técnica de branqueamento interno/externo, ou igualmente designada por combinada. Utiliza o peróxido de carbamida a 10% directamente dentro da câmara pulpar e sobre a superfície vestibular com o auxílio de uma moldeira de resina mole, flexível e individualizada (Settembrini *et al*, 1997).

O branqueamento dentário pode, também, ser efectuado no consultório. Esta técnica foi, provavelmente, utilizada pela primeira vez em 1916, quando Abbot descobriu que as lâmpadas de alta intensidade aumentavam a eficiência dos produtos de branqueamento através do aumento da temperatura (Touati *et al*, 1999). Em 1965, Zach e Cohen descreveram esta técnica utilizando peróxido de hidrogénio a 35%. Mais tarde a introdução de lâmpadas mais potentes veio popularizar esta técnica, com a utilização do peróxido de hidrogénio e de carbamida a 35%.

1.4. COMPOSIÇÃO DOS MATERIAIS DE BRANQUEAMENTO

Os materiais de branqueamento, desde que foram introduzidos na prática clínica, têm evoluído e sofrido várias modificações. Geralmente são classificados em gerações, segundo a sua evolução ao longo do tempo. Os materiais de primeira geração apresentavam-se na forma líquida, sendo mais difíceis de manter nas moldeiras sendo necessária a sua substituição frequente. Os materiais de segunda geração, mais viscosos e em forma de gel, evitam as perdas e a irritação dos tecidos moles adjacentes e ao longo do tracto digestivo. Estes materiais estão disponíveis nos seus diversos princípios activos e em concentrações diferentes. Os materiais de terceira geração são semelhantes aos da geração anterior, mas diferem no veículo e na coloração. Na sequência do aumento da procura deste tipo de produtos, devido à preocupação crescente com a estética, a indústria de materiais dentários melhorou o acondicionamento dos produtos, elaborando estojos para fornecer aos doentes com os materiais necessários e as instruções terapêuticas.

Os produtos de branqueamento apresentam vários constituintes, variando, de acordo com a marca comercial. (Apêndice 1)

1.4.1 - Peróxido de carbamida

A solução aquosa de peróxido de carbamida ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}_2$) a 10% é a mais utilizada nas terapêuticas de branqueamento em ambulatório. Também podem ser utilizadas em concentrações variáveis de 11% a 22%. Existem ainda a 35%, mas esta concentração deve ser utilizada exclusivamente no consultório, não sendo aconselhada para terapêuticas em ambulatório, já que requer uma protecção especial dos tecidos moles (gengivais e mucosos) com dique de borracha e/ou um protector à base de resina aplicado directamente sobre os tecidos. As diferenças de eficácia entre as várias terapêuticas de branqueamento com diferentes concentrações do mesmo produto não

estão totalmente estudadas e clarificadas, já que esta eficácia não depende apenas das concentrações, mas também do doente e do tempo de utilização dos mesmos (ADA, 2003). (Apêndice 2)

1.4.2 - Peróxido de hidrogénio

A maioria dos produtos de branqueamento contém peróxido de hidrogénio (H_2O_2), ou na fórmula original ou como subproduto da fórmula de peróxido de carbamida.

Na forma original existem diferentes concentrações entre 1,5% a 38%, dependendo das marcas comerciais (ADA, 2003). (Apêndice 3)

Em concentrações inferiores pode ser utilizado em terapêuticas de branqueamento em ambulatório, mas, mais elevadas, deve ser utilizado apenas no consultório. O peróxido de hidrogénio é, também, o princípio activo mais utilizado nos produtos de branqueamento de venda livre, variando nas suas concentrações entre 1,5% a 10%. (ADA, 2003; Gerlach *et al*, 2005). (Apêndice 4)

1.4.3 - Perborato de sódio e outros produtos

Neste grupo de materiais os produtos de branqueamento não contêm ou não produzem peróxido de hidrogénio. O composto com maior actividade é o perborato de sódio, embora possam ser encontrados a hidroxilite[™], o cloreto de sódio, o oxigénio e o fluoreto de sódio. (Apêndice 5)

O perborato de sódio ($NaBO_3 \cdot 4H_2O$) é um sal de sódio do ácido perbórico. O anião perborato é um oxidante como o permanganato, o peróxido de hidrogénio e o hipoclorito de sódio. É um sólido branco, inodoro, solúvel em água com poder de irritação cutânea (Greenwall *et al*, 2001).

Existem algumas formas comerciais que reúnem o perborato de sódio com o peróxido

de hidrogénio a 30% (Superoxol com perborato de sódio), para utilização na terapêutica de branqueamento interno, descrita no desenvolvimento deste trabalho (Touati *et al*, 1999).

1.4.4 - Agentes espessantes

O carbopol (carboxipolimetileno) é um polímero do ácido poliacrílico, está associado a um agente neutralizante, a trolamina, induzindo o pH do gel para 5 a 7 (Touati *et al*, 1999).

O carbopol tem várias funções, sendo a mais importante a modificação da viscosidade do produto branqueador, que através da sua natureza tixotrópica permite uma melhor retenção e uma fluidez menos acentuada do gel na moldeira. Estas duas características promovem a necessidade de uma menor quantidade de gel e uma maior aderência dentária (Busato *et al*, 2002).

O efeito efervescente decorrente da degradação dos produtos de branqueamento, também pode ser diminuído pelo carbopol, já que este retarda a libertação de oxigénio, melhorando os tempos de utilização do produto e, conseqüentemente, implicando uma menor necessidade de trocas do mesmo. Assim, aumenta o tempo de contacto entre o dente e o produto, permitindo a difusão deste através da estrutura dentária (ADA, 2003).

O aumento da viscosidade oferecido pelo carbopol permite, ainda, que o produto de branqueamento seja mais resistente à acção da saliva, nomeadamente na reacção do peróxido de hidrogénio com a peroxidase salivar, diminuindo e retardando a degradação do peróxido de hidrogénio. As terapêuticas são, assim, mais efectivas e eficazes (Freitas *et al*, 2004). No entanto, este factor pode também contribuir para um maior número de alterações na superfície do esmalte e da dentina após serem sujeitos a terapêuticas de branqueamento (Freitas *et al*, 2004; Rodrigues *et al*, 2005).

O Polyx é outro agente espessante utilizado pela Colgate® no seu sistema de branqueamento Platinum® (Colgate Oral Pharmaceutical, Canton, United States). A composição e/ou fórmula química deste composto é desconhecida e apenas o fabricante a possui (Greenwall *et al*, 2001).

1.4.5 - Ureia

A ureia está naturalmente presente no organismo humano, sendo produzida pelas glândulas salivares e, portanto, existe na saliva e no fluido crevicular gengival. A ureia degrada-se em amónia e dióxido de carbono espontaneamente ou através do metabolismo bacteriano, influenciando o pH que depende da concentração ou duração de aplicação da mesma (Greenwall *et al*, 2001). A ureia é, assim, utilizada nos produtos de branqueamento para elevar o pH da solução, estabilizar o peróxido de hidrogénio, estimular a produção de saliva e diminuir os efeitos cariogénicos (Touati *et al*, 1999).

1.4.6 - Veículo

O peróxido de carbamida é formulado com uma base de glicerina, que melhora a viscosidade do composto, facilitando a sua manipulação. No entanto, a glicerina tem alguns efeitos secundários importantes, nomeadamente a desidratação da estrutura dentária, que parece perder a translucidez. A sua deglutição pode provocar lesões ulcerativas ou erosivas da mucosa da orofaringe, esofágica e eventualmente da gástrica.

O dentífrico também pode ser utilizado como veículo, como é o caso do sistema Platinum® (Colgate Oral Pharmaceutical, Canton, United States). O glicol pode igualmente ser utilizado, Quimicamente é caracterizado como glicerina anídrica (Greenwall *et al*, 2001).

1.4.7 - Surfactante e Pigmentos dispersantes

O surfactante é um agente que permite a molhabilidade da superfície, permitindo que o agente branqueador, o peróxido de hidrogénio, se difunda além do limite do gel, através da estrutura dentária.

Os pigmentos dispersantes mantêm os pigmentos à superfície.

Os produtos de branqueamento que contenham o surfactante ou os pigmentos dispersantes são mais eficazes do que aqueles que não os possuem consequentemente o tempo de utilização destes produtos é mais curto (Greenwall *et al*, 2001).

1.4.8 - Conservantes

Todos os produtos de branqueamento têm conservantes como o óxido de alumina, os ácidos fosfóricos, o ácido cítrico e o estanato de sódio. Estes compostos retêm alguns metais transitórios como o ferro, o magnésio, e o cobre que aceleram a degradação do peróxido de hidrogénio. Estas soluções ácidas permitem aumentar a durabilidade e a estabilidade dos produtos de branqueamento (Greenwall *et al*, 2001).

1.4.9 - Aromatizantes

Os aromatizantes são utilizados para melhorar a aprovação e a adesão dos pacientes às terapêuticas de branqueamento, aumentando as opções de escolha de acordo com as preferências dos mesmos.

1.5. MECANISMO DE ACÇÃO

O esmalte é considerado uma membrana semipermeável. A sua porosidade e permeabilidade, permite que as soluções de peróxido fluam livremente através do esmalte até à dentina. Esta facilidade de movimento deve-se, igualmente, ao baixo peso molecular da molécula de peróxido e à natureza penetrante do oxigénio e dos radicais superóxidos (Goo *et al*, 2004; Montalvan *et al*, 2006). Esta elevada taxa de penetração das soluções peróxidas é difícil de conter ou de se edificarem barreiras com essa finalidade (Busato *et al*, 2002).

O peróxido de hidrogénio actua como um oxidante formando radicais livres, e como um oxigenador. Estas funções sustentam o efeito de branqueamento deste composto (Basting *et al*, 2004; Dale *et al*, 2002).

O mecanismo pelo qual ele torna a estrutura dentária mais branca não é totalmente conhecido, mas pensa-se que seja através da oxidação de pigmentos que estão incorporados na mesma. Por exemplo, os pigmentos amarelos (xantopterina) são oxidados em pigmentos brancos (leucopterina), e os pigmentos pretos em castanhos, entre outros. Estes compostos constituídos por anéis de carbono (cromóforos), fortemente pigmentados são abertos e convertidos em cadeias de cor mais clara (Dahl *et al*, 2003; Goo *et al*, 2004). O processo de oxidação é sequencial, resultando em produtos cada vez mais claros, até chegar a um ponto de saturação, onde se atinge o efeito de branqueamento máximo. A partir deste ponto começa o processo de decomposição molecular, principalmente de proteínas, com a degradação da matriz de esmalte. Progredindo atinge-se a sua degradação em oxigénio e água (Carrilho, 2002; Fasanaro, 1992; Greenwall *et al*, 2001). (Apêndice 6)

Por outro lado, os produtos de branqueamento devem estar em contacto com a estrutura dentária o tempo e a frequência adequados para que ocorra todo o processo de oxidação descrito. Algumas marcas comerciais sugerem a reposição do produto de branqueamento a cada hora de terapêutica, devido à diminuição da efectividade do mesmo (Greenwall *et al*, 2001). No entanto, este procedimento pode aumentar a

incidência de sensibilidade dentinária, como é descrito mais à frente no capítulo referente aos efeitos locais e sistêmicos.

O prognóstico de uma terapêutica de branqueamento depende, principalmente, da concentração do agente branqueador, da capacidade desse agente para reagir com os cromóforos, e da duração e frequência de contacto desse mesmo agente com os cromóforos (Dahl, 2003).

1.5.1 - Peróxido de carbamida

O **peróxido de carbamida** é um derivado bifuncional do ácido carbónico, que pode eventualmente degradar-se em água, oxigénio e ureia. Esta degrada-se em dióxido de carbono e amónia (Basting *et al*, 2004).

O peróxido de carbamida a 10% ($\text{CH}_6\text{N}_2\text{O}_3$) é a concentração mais utilizada em terapêuticas de branqueamento de ambulatório, decompõe-se em 3,35% de uma solução de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e 6,65% de uma solução de ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) (Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002, Hanks *et al*, 1993; Vieira *et al*, 2003; Zantner *et al*, 2007). Outras concentrações de peróxido de carbamida podem ser utilizadas com a mesma técnica, tais como a 15% que dá origem a 5,4% de peróxido de hidrogénio e a 20% que se decompõe em 7% de peróxido de hidrogénio (Fasanaro, 1992; Touati *et al*, 1999). (Apêndice 7)

O peróxido de hidrogénio degrada-se em oxigénio e água, enquanto a ureia dá origem a amónia e dióxido de carbono (Dahl *et al*, 2003). O oxigénio resultante desta decomposição é o responsável pelo processo oxidativo, e o dióxido de carbono e a amónia, por outro lado, são responsáveis pelo aumento do pH que facilita o processo de branqueamento (Basting *et al*, 2004, Busato *et al*, 2002; Cavalli *et al*, 2004; Dahl *et al*, 2003; Sun, 2000; Zantner *et al*, 2007). (Apêndice 7)

Os efeitos secundários produzidos pelos produtos resultantes da degradação do peróxido de carbamida, acima referidos, são relativamente desconhecidos, existindo poucos estudos clínicos.

1.5.2 - Peróxido de hidrogénio

O **peróxido de hidrogénio** decompõe-se em oxigénio e água. As moléculas do primeiro penetram através da estrutura dentária e proporcionam a libertação das moléculas dos pigmentos e, conseqüentemente, branqueiam o dente. O peróxido de hidrogénio em breves períodos pode formar um radical livre - o prohidroxilo (OOH^\cdot), muito reactivo e com um elevado poder oxidativo (Dale *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003; Vieira *et al*, 2003). Este radical pode quebrar uma grande cadeia macromolecular de pigmentos em moléculas mais pequenas, que serão expulsas para a superfície por difusão, ou, pode actuar sobre a estrutura inorgânica e a matriz proteica (Vieira *et al*, 2003).

Em concentrações altas, o peróxido de hidrogénio remove a matriz de esmalte, criando lacunas microscópicas que, com a incidência de luz aumentam a aparência de branco, até que a remineralização ocorra, havendo posteriormente uma regressão de cor (ADA, 2003; Cavalli *et al*, 2004; Greenwall *et al*, 2001).

Estes dois produtos de branqueamento referidos são eficazes. No entanto, o sistema que utiliza o peróxido de hidrogénio como molécula principal parece tornar a terapêutica mais rápida, com necessidade de um menor tempo de exposição (Suliaman *et al*, 2004). Os sistemas que utilizam o peróxido de hidrogénio são apresentados na forma de um gel aquoso, o que permite uma menor desidratação dos tecidos duros. Os sistemas que utilizam o peróxido de carbamida são apresentados sob a forma de um gel anídrico, mais viscoso, sendo os seus efeitos mais lentos, necessitando de maiores tempos de exposição (Greenwall *et al*, 2001).

1.5.3 - Perborato de Sódio

O perborato de sódio é estável em meio seco, mas na presença de um ácido, ar quente ou água, decompõe-se dando origem a metaborato de sódio, peróxido de hidrogénio e oxigénio. Existem várias preparações de perborato de sódio como o monohidrato, o trihidrato e o tetrahidrato, diferindo nas quantidades de oxigénio que contêm, e conseqüentemente na sua eficácia (Dale *et al*, 2002; Greenwall *et al*, 2001; Weiger *et al*, 1994)

Assim, o gel sem peróxido de hidrogénio entra em contacto com a superfície húmida da estrutura dentária e é activado. O complexo de oxigénio interage com a estrutura dentária, saturando e modificando os aminoácidos e as duplas ligações de oxigénio que são responsáveis pela alteração cromática (Dale *et al*, 2002). (Apêndice 7)

1.6. TERAPÊUTICAS DE BRANQUEAMENTO

Existem vários tipos de terapêuticas de branqueamento dentário, estando a sua escolha dependente do tipo de colorações existentes e de alguns condicionalismos inerentes ao doente, como seja: a sua capacidade e disponibilidade para efectuar as terapêuticas planeadas, as suas expectativas e alguns factores resultante da avaliação da história clínica médica e dentária. As técnicas de branqueamento dividem-se, basicamente, em dois tipos de acordo com a vitalidade do dente ou dos dentes a branquear. Existem terapêuticas específicas para branqueamento de dentes sem vitalidade, como a de branqueamento interno e a de branqueamento interno-externo.

As terapêuticas de branqueamento de dentes com vitalidade podem ser duas consoante se realizem em ambulatório ou no consultório, podendo ser utilizados vários tipos de produtos com diversos princípios activos e diferentes concentrações.

1.6.1 - Terapêutica de branqueamento em consultório

A terapêutica de branqueamento realizada no consultório caracteriza-se pela colocação dos produtos de branqueamento sobre a superfície dentária, podendo ser activados por luz ou não. Nalgumas técnicas utilizam-se aparelhos que activam os produtos químicos através da luz, calor ou luz laser, como os de fotopolimerização com lâmpada de halogéneo, os aparelhos de polimerização com lâmpadas específicas para terapêuticas de branqueamento (plasma ou xenon) ou aparelhos laser (Argon ou CO₂) (Carrasco *et al*, 2007; Christensen, 2000; Dale *et al*, 2002; Dostalova, 2004; Gallagher *et al*, 2002; Kugel *et al*, 2006; Sulieman *et al*, 2005). Os produtos utilizados podem ter como princípio activo tanto o peróxido de hidrogénio como o peróxido de carbamida, ambos em concentrações variáveis entre 20 e 38%. (Apêndice 2 e 3) Estes produtos podem ser em forma de líquido ou gel. Estes últimos são mais utilizados pelas suas vantagens (Kugel *et al*, 2006; Sulieman *et al*, 2005), como: a menor incidência de ulcerações gengivais, devido à maior viscosidade do produto e a menor desidratação da estrutura dentária devido à incorporação no gel de uma quantidade substancial de água. No entanto, como neste tipo de terapêutica são utilizados princípios activos em concentrações maiores, podem ocorrer queimaduras dos lábios, mucosa jugal e gengival, e hipersensibilidade dentinária (Deliperi *et al*, 2004; Luk, 2004).

A prevenção destas complicações clínicas é efectuada pelo médico dentista, com recurso a diversos tipos de protecção da cavidade oral e da face do doente, e/ou a prescrição de analgésicos para remissão da sensibilidade dentinária (Gallagher *et al*, 2002).

Esta terapêutica de branqueamento necessita de uma menor colaboração do doente e evita a ingestão do produto branqueador, já que é totalmente controlada pelo médico dentista. No entanto requer, mais tempo de consulta e envolve maiores custos para o doente (Luk, 2004; Montalvan *et al*, 2006).

1.6.2 - Terapêutica de branqueamento em ambulatório

A terapêutica de branqueamento em ambulatório foi introduzida em 1989, por Haywood e Heymann, designada como “Terapêutica Nocturna em Ambulatório“. Caracteriza-se pela colocação do produto numa moldeira individualizada adaptada à arcada dentária do doente e utilizada durante a noite (Haywood *et al*, 1989). Esta terapêutica pode ser realizada em dentes com e sem vitalidade, designando-se por branqueamento externo e interno/externo (combinado), respectivamente.

Esta terapêutica, embora realizada em ambulatório, é prescrita e controlada pelo médico dentista após a elaboração de uma história clínica exhaustiva. A moldeira individualizada é confeccionada em resina termoplástica sobre o modelo de gesso que é elaborado a partir do molde, em alginato, da arcada dentária. Sobre as superfícies dentárias vestibulares do modelo de gesso deve ser aplicado um espaçador, formando um reservatório para o acondicionamento do produto de branqueamento. Este espaçador é geralmente uma resina fotopolimerizável, que deve ser aplicada a cerca de 2mm do limite da gengiva marginal livre, no sentido oclusal. A moldeira é, assim, adaptada à arcada dentária do paciente, com extensão no sentido apical até 2 mm do limite da gengiva marginal livre para lhe conferir total hermeticidade, prevenindo o extravasamento do produto de branqueamento (Gerlach *et al*, 2004; Newman *et al*, 1995). A confecção da moldeira é uma etapa essencial na terapêutica de branqueamento em ambulatório, já que uma boa adaptação a nível gengival previne ulcerações da gengiva e da mucosa oral, bem como, a deglutição de quantidades consideráveis de produto de branqueamento (Gerlach *et al*, 2004). Além disso, uma correcta escolha da espessura e o cumprimento dos requisitos referidos na elaboração da moldeira, e a definição e polimento das margens da mesma, aumenta o conforto na sua utilização, prevenindo a descontinuidade ou o abandono da terapêutica pelo doente (Matis *et al*, 2002; Newman *et al*, 1995; Touati *et al*, 1999).

Os produtos de branqueamento utilizados nesta técnica são, normalmente, o peróxido de carbamida entre 10% e 22% e o peróxido de hidrogénio entre 1,5% e 15% (Apêndice 2 e 3) (Myers *et al*, 2003; Sulieman, 2004). Nalguns casos, os produtos

apresentam-se em concentrações crescentes para a utilização ao longo da terapêutica. A escolha da concentração mais adequada para cada caso clínico é feita pelo médico dentista de acordo com diversos factores, uma vez que há uma relação inversa entre a concentração do produto de branqueamento e o tempo necessário para efectuar a terapêutica com sucesso: quanto maior a concentração, menor será o tempo necessário para a mesma (Gerlach *et al*, 2004).

Ao doente é disponibilizado o conjunto da moldeira e dos materiais de branqueamento escolhidos pelo médico dentista, e explicado o protocolo da terapêutica de branqueamento. O doente coloca o produto de branqueamento na moldeira nas áreas correspondentes à arcada a branquear, e adapta a mesma. Deve remover o excesso de produto, mantendo a moldeira durante algumas horas diurnas ou nocturnas, consoante o protocolo que lhe foi prescrito. No entanto, o protocolo de utilização nocturna pode ter algumas vantagens em termos de eficácia, já que há uma diminuição da perda de produto devido à diminuição do fluído salivar e uma redução da pressão oclusal (Dunn, 1998; Haywood, 2000). A terapêutica de branqueamento descrita não deve ser efectuada simultaneamente nas duas arcadas, para se poder referenciar a modificação de cor com a arcada que não se encontra em tratamento.

Durante a terapêutica de branqueamento devem ser efectuadas, consultas de controlo semanais, avaliando a modificação da cor e alguns efeitos secundários inerentes a esta terapêutica.

Esta é uma técnica previsível, amplamente estudada, com uma percentagem de sucesso de 98% para colorações dentárias não provocadas por tetraciclinas e 86% para colorações dentárias por tetraciclinas (Leonard, 2000). Este sucesso difere consoante as arcadas dentárias sujeitas a terapêutica. Nos dentes da arcada superior obtêm-se, geralmente, modificações da cor mais rápidas com um efeito branqueador maior quando comparado com os dentes da arcada inferior. Isto deve-se a uma melhor retenção da moldeira superior, aos efeitos da gravidade e à redução dos efeitos dos fluidos salivares (Baratieri *et al*, 1993).

Esta terapêutica também se aplica em dentes sem vitalidade, como referido anteriormente, mas com uma pequena modificação, designando-se por terapêutica de

branqueamento interno/externo (Türkün *et al*, 2004). Nesta, realiza-se uma pequena cavidade na face palatina ou lingual dos dentes com terapêutica endodôntica, selando esta cavidade a nível da junção cementodentinária (Hilgert *et al*, 2009) com hidróxido de cálcio e/ou ionómero de vidro ou cimento de poliacarboxilato, mantendo-se aberta a restante cavidade para colocação do produto de branqueamento (Attin *et al*, 2003; Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003; Oliveira *et al*, 2003; Poyser *et al*, 2004). Numa fase inicial esta terapêutica de branqueamento é apenas efectuada no dente ou dentes não vitais, estendendo-se, posteriormente, aos restantes dentes da arcada (Busato *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003; Liebenberg, 1997; Settembrini *et al*, 1997). Outras técnicas de branqueamento interno utilizavam peróxido de hidrogénio combinado com perborato de sódio, activados pelo calor; ou apenas perborato de sódio e água em cavidade fechada (Baratieri *et al*, 1995; Lienbenberg, 1997; Shinohara *et al*, 2001; Timpawat *et al*, 2005; Türkün *et al*, 2004). Actualmente, estas terapêuticas são pouco utilizadas devido há elevada incidência de reabsorções radiculares externas, principalmente na técnica Termocatalítica e, especilmente em dentes que sofreram traumatismos (Attin *et al*, 2003; Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002; Touati *et al*, 1999; Türkün *et al*, 2004).

Em doentes que manifestamente não colaborem de modo a efectuar a terapêutica em ambulatório, alguns autores recomendam a utilização de peróxido de carbamida a 22% ou a 37% em cavidade fechada, trocando o produto semanalmente (Shinohara *et al*, 2001; Teixeira *et al*, 2003).

A técnica de branqueamento externo em ambulatório é extremamente popular, por ser prática, simples e de baixo custo (Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002; Gökay *et al*, 2004).

No entanto, estas características colocaram-na facilmente comercializável, sendo actualmente disponibilizada no nosso país através da venda livre de estojos para tratamentos de branqueamento, que incluem os produtos de branqueamento e moldeiras universais, pelas farmácias ou através da internet (Gambarini *et al*, 2004). Estes estojos em regime de venda livre para efectuar tratamentos de branqueamento

dentário podem ter um produto branqueador com dois tipos de princípio activo (peróxido de hidrogénio ou o peróxido de carbamida) em diferentes concentrações, dependendo das marcas comerciais. (Apêndice 4) Associados a estes produtos, os estojos possuem, ainda, ou moldeiras universais, ou tiras de polietileno impregnadas pelo produto branqueador (Cronin *et al*, 2003; Donly, 2003; Ferrari *et al*, 2004; Gerlach *et al*, 2002; Gökyay *et al*, 2004), ou, o produto branqueador na forma líquida para aplicação com pincel (Date *et al*, 2003; Gerlach *et al*, 2005; Gerlach *et al*, 2003; Karpinia *et al*, 2003; White *et al*, 2003). Alguns destes estojos podem ter um ácido, geralmente o ácido cítrico ou o ácido ortofosfórico, combinados com o cloreto de sódio, para uma preparação prévia da estrutura dentária (Gerlach *et al*, 2001; Zantner *et al*, 2007). Uma pasta de polimento com óxido de titânio existe também nestes conjuntos. O protocolo de utilização destes sistemas varia consoante as marcas comerciais mas, na generalidade, é semelhante ao preconizado pela terapêutica de branqueamento em ambulatório, efectuada pelo médico dentista.

A terapêutica de branqueamento em ambulatório efectuada por este tem a grande vantagem de poder ser repetida alguns anos mais tarde (2 a 4 anos), recuperando a cor estabelecida na primeira terapêutica e reutilizando as moldeiras efectuadas nesse tempo clínico. A nova terapêutica é mais simples, pois na maioria dos casos não há necessidade de efectuar novas moldeiras, a não ser que estejam presentes hábitos bruxómanos que tenham danificado as moldeiras (Baratieri *et al*, 1993).

A terapêutica de branqueamento em ambulatório tem taxas de sucesso elevadas, com a manutenção dos resultados durante 1 a 3 anos. No entanto, deve ser prescrita pelo médico dentista, monitorizada por este de modo a garantir o sucesso da terapêutica a longo prazo e a minimização dos efeitos secundários (Li *et al*, 2003).

Estas terapêuticas podem ser combinadas, utilizando-se na mesma situação clínica várias técnicas que, coadjuvadas, resultam num maior sucesso da terapêutica final. Estas combinações dependem, geralmente, da etiologia das colorações. Para que este sinergismo entre as diferentes técnicas resulte, é essencial que o médico dentista conheça profundamente os diversos materiais disponíveis no mercado e as diferentes técnicas a praticar.

1.7. ALTERAÇÕES NOS TECIDOS DENTÁRIOS E ORAIS

1.7.1 - Efeitos sobre o esmalte

Vários estudos realizados em microscopia electrónica de varrimento demonstram que o peróxido de carbamida não produz ou, apenas produz pequenas alterações na morfologia do esmalte (Çobankara *et al*, 2004; Efeoglu *et al*, 2005; Teixeira *et al*, 2004). Há autores que descrevem algumas áreas focais de erosão, mas sem alterações na composição do próprio tecido (Spalding *et al*, 2003). Bitter em 1995, num estudo no qual comparou terapêuticas com peróxido de carbamida com diferentes concentrações, entre 16% e 35%, observou grandes modificações das superfícies do esmalte, incluindo perda da camada aprismática e exposição e desmineralização dos prismas de esmalte (Efeoglu *et al*, 2006; Greenwall, 2001; Cavalli *et al*, 2004).

A maioria dos estudos concluiu que a dureza de superfície do esmalte, aparentemente, não é afectada pelas terapêuticas de branqueamento (Ferreira *et al*, 2006; Joiner *et al*, 2004; White *et al*, 2004). No entanto, há autores que referem uma significativa diminuição da dureza após a aplicação de peróxido de carbamida a 10%, devido à perda de mineral e com consequências na diminuição da resistência à abrasão (Basting *et al*, 2003; Cavalli *et al*, 2004; Hosoya *et al*, 2003). Em técnicas efectuadas em consultório, utilizando peróxido de hidrogénio a 35%, esta diminuição da microdureza parece estar aumentada em relação à técnica em ambulatório (Cavalli *et al*, 2004; Efeoglu *et al*, 2006; Lewinstein *et al*, 2004). Alguns autores referem que esta diminuição da dureza de superfície e da resistência à abrasão pode ser quase totalmente revertida com a aplicação de soluções fluoretadas após as terapêuticas de branqueamento com efeito tampão da saliva (Basting *et al*, 2003; Busato *et al*, 2002; Çobankara *et al*, 2004; Joiner *et al*, 2004; Lewinstein *et al*, 2004; Teixeira *et al*, 2004).

Esta perda de mineral, encontrada por alguns autores, está também associada a uma perda de componentes orgânicos, como o carbono, o hidrocarbono e grupos de amins terciárias, que são substituídos por oxigénio, cálcio e fósforo (Araujo Jr *et al*, 2003;

Basting *et al*, 2004; Oliveira *et al*, 2005). A relação cálcio/fósforo pode também estar diminuída quando são efectuadas terapêuticas com peróxido de hidrogénio a 30% e peróxido de carbamida a 10% (Pugh *et al*, 2005; Ulukapi *et al*, 2003). Estas perdas de cálcio embora efectivas, não são, na maioria dos casos, clinicamente significativas (Araujo Jr *et al*, 2003; Pretty *et al*, 2005), sendo inclusivamente menores que as perdas causadas por uma exposição a refrigerantes com pH ácido (Goo *et al*, 2004; Park *et al*, 2004; Yiming *et al*, 2003). No entanto, em terapêuticas que se estendem a longo prazo ou com a utilização de produto de branqueamento à base de peróxido de carbamida em concentrações acima dos 10%, as consequências são imprevisíveis e são necessários mais estudos (Efeoglu *et al*, 2006; Çobankara *et al*, 2004). Um outro factor importante na diminuição da microdureza do esmalte parece ser o pH das formulações químicas de alguns produtos de branqueamento utilizados, e a utilização de alguns agentes espessantes como o carbopol e a glicerina (Attin *et al*, 2006; Sulieman *et al*, 2004). Um pH ácido (abaixo de 5,2) pode mesmo provocar dissolução do esmalte. Este pH ácido é tanto maior quanto maior a concentração do peróxido de hidrogénio (Price *et al*, 2000).

Podem ocorrer erosões, clinicamente significativas com dissolução do esmalte e perda de anatomia, com os materiais em regime de venda livre para a técnica de branqueamento em ambulatório, já que os compostos utilizados nestes produtos de branqueamento têm um pH muito baixo e a utilização coadjuvante de ácidos, cloreto de sódio e de uma pasta abrasiva potencia este efeito secundário (ADA, 2003; Cubbon *et al*, 1991; Price *et al*, 2000; Teixeira *et al*, 2004; Li *et al*, 2003; Zantner *et al*, 2007).

O potencial cariogénico não parece alterado, mesmo em condições adversas de modificação da superfície do esmalte, devido ao efeito bactericida do peróxido de carbamida e do de hidrogénio, com duração de 1 a 3 semanas após tratamento (Kraigher *et al*, 2006).

As terapêuticas de branqueamento são responsáveis pela diminuição das forças de adesão ao esmalte. Este efeito é transitório e surge de imediato (24 horas após o

tratamento), quer se trate do peróxido de hidrogénio, quer se trate do peróxido de carbamida (Cvitko *et al*, 1991; Dale *et al*, 2002; Montalvan *et al*, 2006; Torneck *et al*, 1991). Deve-se, assim, aguardar 1 a 2 semanas após o branqueamento para o restabelecimento dos valores (Basting *et al*, 2004; Dale *et al*, 2002; Miyazaki *et al*, 2003; Price *et al*, 2000). Este intervalo de tempo permite, igualmente, a estabilização da cor dentária (Della Bona *et al*, 1992).

Alguns estudos demonstraram que no esmalte sujeito à acção dos produtos de branqueamento se observam “resin tags” mais curtos, menos definidos e em menor número, do que quando comparados com os do esmalte sem tratamento (Basting *et al*, 2004; Titley *et al*, 1991). O oxigénio presente na superfície deste esmalte tratado, também inibe a polimerização das resinas compostas (McGukin *et al*, 1991). Terapêuticas de branqueamento de dentes com tratamento endodôntico têm demonstrado, em alguns estudos, um aumento da infiltração marginal das restaurações com resina composta (Barkholder *et al*, 1997).

1.7.2 - Efeitos sobre a dentina

O principal efeito sobre a dentina é a modificação de cor que ocorre uniformemente após as terapêuticas de branqueamento com peróxido de carbamida ou de hidrogénio (Edwards *et al*, 2003; Gallagher *et al*, 2002; Mahony *et al*, 2003; Mokhlis *et al*, 2000; Sulieman *et al*, 2005; Wiegand *et al*, 2005). Esta modificação de cor é clinicamente evidente, podendo não ser uma modificação efectiva, mas sim devido ao facto da estrutura dentária se tornar menos translúcida ou mais desidratada. Este último efeito é transitório e regride ao fim de algum tempo. A cor obtida após as terapêuticas de branqueamento regride, ligeiramente, ao longo das 2 semanas seguintes. Têm sido teorizadas várias hipóteses que explicam este fenómeno, nas quais se admite que a estrutura dentária está preenchida com oxigénio, resultado do processo oxidativo, e este facto modifica as características ópticas da estrutura dentária, que parece mais

opaca. Ao longo das duas semanas seguintes, o oxigénio vai-se dissipando, diminuindo a opacidade e modificando a cor (Kim *et al*, 2004; Papathanasiou *et al*, 2002).

A sua estrutura e microdureza não parecem sofrer alterações, como referem alguns estudos (Freitas *et al*, 2004; Joiner *et al*, 2004; Ünlü *et al*, 2004; White, 2004) ou quando ocorrem são reversíveis, tendo a saliva um papel fundamental na remineralização (Arcari *et al*, 2005).

A adesão à dentina também está alterada após a terapêutica, devido à formação de um precipitado de peróxido de hidrogénio e colagénio sobre a superfície de dentina preparada (Arcari *et al*, 2005; Miguel *et al*, 2004; Teixeira *et al*, 2003) e/ou devido à presença de oxigénio residual resultante dos produtos de branqueamento (Price *et al*, 2000; Shinohara *et al*, 2001). Assim, a utilização de adesivos dentinários deve ser efectuada duas semanas após as terapêuticas de branqueamento, permitindo a remoção destes produtos residuais através da circulação pulpar (Kum *et al*, 2003; Price *et al*, 2000; Shinohara *et al*, 2005). A utilização da catalase ou substâncias derivadas elimina mais rapidamente os produtos residuais, diminuindo o tempo de edificação da restauração definitiva (Kum *et al*, 2003).

A sensibilidade dentinária é um dos efeitos secundários mais comuns e significativos das terapêuticas de branqueamento dentário, embora na maior parte dos casos desapareça 2 a 3 horas após a sua realização (Alberts, 2000; Barnes *et al*, 1998; Browning *et al*, 2004; Busato *et al*, 2002; Gerlach *et al*, 2004; Haywood *et al*, 1994; Heymann *et al*, 1998; White, 2004; Li *et al*, 2003). Alguns estudos demonstram que esta sensibilidade dentária é tanto maior, quanto maior for a frequência dos tratamentos, no caso de terapêuticas realizadas no consultório, ou quanto mais frequentemente for trocado o produto de branqueamento, no caso de terapêuticas em ambulatório (Browning *et al*, 2004; Swift, 2004; Yiming *et al*, 2003). A sensibilidade também parece ser tanto maior, quanto mais alta for a concentração dos produtos de branqueamento utilizados (Callabero *et al*, 2006; Matis *et al*, 2006). Existem algumas patologias que podem estar associadas ao aparecimento da sensibilidade dentária, como são as recessões gengivais, defeitos de restaurações e lesões cervicais na junção amelocementária (Swift, 2004). A terapêutica para a remissão da sensibilidade

deve basear-se: primeiro na alteração de alguns procedimentos do tratamento de branqueamento, seja modificando as concentrações dos produtos utilizados, seja modificando a frequência de utilização dos mesmos; e em segundo lugar na prescrição de agentes de dessensibilização, como produtos fluoretados em aplicação tópica no consultório ou em ambulatório (Attin *et al*, 2006; Bizhang *et al*, 2006; Browning *et al*, 2004; Swift, 2004; Touati *et al*, 1999). Actualmente, existem no mercado alguns produtos de branqueamento que incorporam diversas substâncias dessensibilizantes, como o fluoreto de sódio e o nitrato de potássio (Attin *et al*, 2006; Swift, 2004; Li *et al*, 2003). A utilização destes pode reduzir o potencial risco oxidativo dos produtos de branqueamento, embora se especule sobre a formação de nitrosaminas que são carcinogénios (Li *et al*, 2003).

Nos produtos em regime de venda livre, a sua utilização sem controlo e temporalmente dilatada pode despoletar situações clínicas de sensibilidade dentária aumentada, que não são diagnosticadas e tratadas pelos médicos dentistas, com riscos para a saúde oral do doente (Hasson *et al*, 2006; Li *et al*, 2003). No entanto, alguns destes estojos têm produtos que reduzem a sensibilidade dentinária como o flúor e o nitrato de potássio (ADA, 2003).

1.7.3 - Efeitos sobre a polpa

A difusão dos produtos de branqueamento através do tecido pulpar durante a terapêutica varia significativamente consoante o produto utilizado e a sua concentração, resultando em diferentes níveis de sensibilidade dentinária e de eficácia terapêutica (Gökay *et al*, 2004; Matis *et al*, 2003; Pugh *et al*, 2005; Sulieman *et al*, 2005). De acordo com alguns estudos, a penetração no tecido pulpar pode ocorrer em apenas 15 minutos (Hanks *et al*, 1993; Joiner *et al*, 2004; Touati *et al*, 1999). Esta, depende da relação entre o tempo de contacto do produto com a superfície dentária e a sua concentração, bem como, da pressão pulpar positiva e da pressão osmótica do

produto. A aplicação de calor durante a terapêutica de branqueamento pode, igualmente, influenciar esta penetração, aumentando-a (Gökay *et al*, 2004; Hanks *et al*, 1993; Sulieman *et al*, 2005).

Segundo alguns autores existe um menor poder de penetração do peróxido de carbamida relativamente ao peróxido de hidrogénio (Goo *et al*, 2004; Sulieman *et al*, 2004). Uma solução de peróxido de hidrogénio a 3% pode causar uma redução transitória na circulação sanguínea pulpar provocando, no limite, a obliteração dos vasos sanguíneos (Cherry *et al*, 1993). Os efeitos negativos podem-se estender às células pulpares e aos odontoblastos presentes na câmara pulpar, interferindo na sua diferenciação e conseqüente formação de dentina secundária (Dahl *et al*, 2003; Hanks *et al*, 1993; Lee *et al*, 2006; Li *et al*, 2003). Estes factos conhecidos são particularmente preocupantes em doentes que pretendam resultados rápidos e que utilizem os produtos de branqueamento com maior frequência. As técnicas com luz laser em períodos mais longos de tempo podem resultar em situações clínicas de elevada sensibilidade dentária (Benetti *et al*, 2004; Hanks *et al*, 1993; Sulieman *et al*, 2005; Tam, 1999). Estas conclusões clínicas, atrás referidas, estão devidamente suportadas por muitos estudos clínicos de vários autores (Goo *et al*, 2004; Touati *et al*, 1999). Estes estudos indiciam que este aumento da sensibilidade parece estar relacionado com a dose e a fonte de calor utilizada, em detrimento da possível relação com o pH dos produtos usados (Sulieman *et al*, 2005). Os autores sugerem algumas recomendações, tais como: o controlo por parte do médico dentista; a utilização regrada dos produtos por parte dos doentes com uma informação detalhada de todos os possíveis efeitos secundários das terapêuticas aos mesmos; e a prescrição cuidadosa deste tipo de terapêuticas a doentes com grandes restaurações, zonas de erosão cervical, abrasão e fissuras do esmalte (Benetti *et al*, 2004; Fugaro *et al*, 2005; Hanks *et al*, 1993; Haywood, 2003; Pretty *et al*, 2005).

Alguns estudos parecem suportar a ideia de que as terapêuticas de branqueamento são seguras em relação ao tecido pulpar deste que severamente controlados pelo médico dentista (Fugaro *et al*, 2005; Goo *et al*, 2004; Li *et al*, 2003; Luk, 2004).

1.7.4 - Efeitos sobre o cimento

O cimento, na maioria dos casos, não é afectado pelos produtos de branqueamento utilizados nas técnicas em ambulatório.

No entanto, existem descrições de reabsorções cervicais e reabsorções externas radiculares em dentes sujeitos a terapêuticas de branqueamento interno utilizando agentes oxidantes, particularmente com o peróxido de hidrogénio a 30% ou 35% (Baratieri *et al*, 1995; Dale *et al*, 2002; Heller *et al*, 1992; Kugel *et al*, 2000; Oliveira *et al*, 2003; Price *et al*, 2000; Riehl *et al*, 2001; Rotstein *et al*, 1991; Rotstein *et al*, 1992). O mecanismo pelo qual esta terapêutica de branqueamento induz lesões no periodonto ou no cimento não é totalmente conhecido. Presumivelmente, os irritantes químicos difundem-se pela estrutura dentinária não protegida ou pelos defeitos do cimento, podendo causar necrose deste último tecido, inflamação do ligamento periodontal e consequentemente reabsorção radicular (Dale *et al*, 2002; Dahl *et al*, 2003; Koulaouzidou *et al*, 1996; Rotstein *et al*, 1991). Alguns autores referem que o peróxido através da sua difusão pela dentina induz desnaturação deste tecido, o que o torna imunologicamente diferente, tendo como consequência uma reacção de corpo estranho (Dahl *et al*, 2003)

Este processo pode ser potenciado pela utilização de calor nas terapêuticas termocatalíticas; ou pela presença de bactérias, em dentes com terapêuticas endodônticas incorrectamente efectuadas (Baratieri *et al*, 1995; Rotstein *et al*, 1991). Existem alguns factores predisponentes, como a idade do paciente e a existência prévia de um traumatismo (Dahl *et al*, 2003; Greenwall *et al*, 2001).

1.7.5 - Efeitos sobre a gengiva e mucosa oral

O peróxido de carbamida tem efeitos benéficos sobre a gengiva e a mucosa oral. O composto, por si só, tem um efeito anti bacteriano e redutor da aderência e acumulação de placa bacteriana na superfície dentária (Almas *et al*, 2003; Curtis *et al*,

1996; Gambarini *et al*, 2003; Gerlach *et al*, 2004; Hanks *et al*, 1993; Hasturk *et al*, 2004; Kugel *et al*, 2000; Tam, 1999). Alguns autores sugerem a sua utilização na higiene oral diária, no tratamento de periodontites, na redução de gengivites, na redução do índice de cárie e no tratamento de ulcerações aftosas (Almas *et al*, 2003; Busato *et al*, 2002; Hasturk *et al*, 2004; Price *et al*, 2000; Stindt *et al*, 1989; Tse *et al*, 1991).

Soluções de peróxido de carbamida têm sido incorporadas nas pastilhas elásticas para inibirem a formação de placa bacteriana. (Busato *et al*, 2002; Moss, 1999). Estas soluções têm, ainda, sido testadas no tratamento de herpes labial recorrente, na utilização como irrigante canalar coadjuvado com o hipoclorito de sódio, ou na utilização como lubrificante canalar (Stindt *et al*, 1989). Existem também alguns estudos *in vitro* que o utilizam como cicatrizante dos tecidos orais após extracção dentária (Busato *et al*, 2002).

No entanto, existem doentes alérgicos aos agentes branqueadores, como o peróxido de carbamida e o peróxido de hidrogénio, cuja utilização está contra-indicada. Estes efeitos alérgicos são evidentes após a utilização do produto e o seu contacto com a mucosa oral, pode provocar edema da mucosa labial e jugal (Busato *et al*, 2002).

A maioria das fórmulas químicas apresentada no mercado comercial não tem protectores dos tecidos moles. Assim, a irritação destes tecidos deve-se às elevadas concentrações de ião hidroxil, de ureia, de amónia ou ácido carbónico (Cherry *et al*, 1993; Hasson *et al*, 2006; Marson *et al*, 2009; Pugh *et al*, 2005; Shethri *et al*, 2003; Ünlü *et al*, 2004).

As moldeiras individualizadas utilizadas na terapêutica de branqueamento em ambulatório podem originar inflamações e ulcerações gengivais, desde que não estejam correctamente confeccionadas (Haywood *et al*, 1994; Mujdeci *et al*, 2006; Li *et al*, 2003). Por outro lado, quando bem adaptadas, podem até contribuir para a prevenção de lesões, por confinarem adequadamente o produto de branqueamento à superfície dentária.

Alterações dos tecidos orais podem ocorrer se for utilizada uma quantidade excessiva de produto de branqueamento, ou se não for cumprido o protocolo definido (Busato *et*

al, 2002; Cherry *et al*, 1993; Craig *et al*, 2002; Gambarini *et al*, 2003; Garber, 1997; Kugel *et al*, 2000; Marson *et al*, 2009; Niederman *et al*, 2000; Ünlü *et al*, 2004; Li *et al*, 2003).

A utilização de peróxido de hidrogénio envolve, na generalidade, maiores riscos para os tecidos moles quando comparado com o peróxido de carbamida. O primeiro é cáustico, podendo provocar queimaduras químicas e necrose gengival (Francischone *et al*, 2005; Haywood *et al*, 1994; Marson *et al*, 2009; Pugh *et al*, 2005; Shethri *et al*, 2003), se não for efectuada uma adequada protecção dos mesmos tecidos. Estes meios de protecção podem ser: creme protector, como a vaselina ou outro do mesmo tipo aplicada em todos os tecidos da mucosa oral e a catalase que, como alguns estudos animais demonstram, quando aplicada nos tecidos antes do peróxido de hidrogénio previne as lesões a ele associadas (Rotstein *et al*, 1993).

Os tratamentos de branqueamento efectuados com os produtos de venda livre, devido à utilização de moldeiras universais, com má adaptação às arcadas dentárias, podem aumentar os riscos de erosões gengivais e úlceras na mucosa oral, principalmente quando há desalinhamentos dentários graves (Dale *et al*, 2002; Gerlach *et al*, 2003; Kugel *et al*, 2000; Li, 2003).

As terapêuticas prolongadas podem alterar a flora oral, alterando o sentido do gosto, e contribuir para o aparecimento de hipertrofia papilar lingual (língua pilosa) e *Candida Albicans*. (ADA, 2003)

1.8. OUTROS EFEITOS LOCAIS E SISTÉMICOS

1.8.1 - Efeitos nos materiais de restauração

Os estudos que existem sobre os efeitos dos produtos de branqueamento nos materiais de restauração têm resultados muito díspares.

A maioria dos estudos demonstra que as resinas compostas não são afectadas pelo peróxido de carbamida (Haywood *et al*, 1991; Baughan *et al*, 1992; Kim *et al*, 2004; Machida *et al*, 1992), nomeadamente em relação à dureza de superfície (Campos *et al*, 2003; Mujdeci *et al*, 2006; Nathoo *et al*, 1992). Esta aparente resistência das resinas compostas à acção do peróxido de hidrogénio pode ser facilmente entendida pelo facto das suas partículas inorgânicas serem inertes e envolvidas pela fase orgânica de resina que é impermeável e impenetrável (Mair *et al*, 2004). No entanto, Bailey e Swift (1991), e Friend *et al*. (1991) observaram alterações na dureza da superfície, entre outros autores (Polydorou *et al*, 2006; Rosentritt *et al*, 2005).

Outros estudos concluem que pode ocorrer aumento da rugosidade de superfície (Singleton *et al*, 1992) e alterações da resistência às forças de tensão (Cullen *et al*, 1992). Estes efeitos descritos podem não ser clinicamente significativos (Kim *et al*, 2004; Swift 1998).

Em relação à cor das resinas compostas esta não é alterada com a terapêutica de branqueamento (Dale *et al*, 2002; Haywood *et al*, 1991; Kim *et al*, 2004). O efeito que ocorre é, apenas, uma alteração na cor superficial, por remoção da primeira microcamada com colorações extrínsecas, e um aumento da luminosidade da linha de transição entre a resina composta e a estrutura dentária (Attin *et al*, 2004; Gerlach *et al*, 2003; Villalta *et al*, 2006). Estes resultados são mais visíveis com o peróxido de hidrogénio do que com o peróxido de carbamida (Canay *et al*, 2003). No entanto, as terapêuticas de branqueamento podem aumentar a microinfiltração marginal das restaurações existentes, já que, após uma terapêutica de branqueamento ocorre diminuição de proteínas salivares aderentes à superfície dentária e,

consequentemente, a adesão das bactérias cariogénicas a essa mesma superfície está diminuída (Attin *et al*, 2004; Teixeira *et al*, 2003). Por todos estes efeitos em conjunto, pode ser necessário remover as restaurações após as terapêuticas de branqueamento, quer sejam pelo aumento da microinfiltração, quer seja pela discrepância de cor entre a estrutura dentária e a restauração (Polydorou *et al*, 2006; Türkün *et al*, 2004; Ulukapi *et al*, 2003). Alguns estudos sugerem que pode existir uma eventual interacção entre a resina composta e o peróxido residual, causando inibição da polimerização da resina e o aumento da sua porosidade (Attin *et al*, 2004; Busato *et al*, 2002; Titley *et al*, 1991). A utilização de catalase antes da aplicação de sistemas de adesão remove o oxigénio residual na dentina, melhorando os valores de adesão, devendo, no entanto, decorrer uma a duas semanas após a terapêutica de branqueamento (Kum *et al*, 2003; Rotstein, 1993; Teixeira *et al*, 2003).

Embora os estudos sobre os efeitos dos produtos de branqueamento no amálgama sejam reduzidos, alguns autores sugerem um aumento da libertação do mercúrio dos amálgamas após as terapêuticas (Hummert *et al*, 1992; Rotstein *et al*, 2004; SCCP, 2006; Steinberg *et al*, 2003). Este efeito é clinicamente mais significativo em terapêuticas de branqueamento prolongadas, como no caso das colorações por tetraciclina, pois parece que existem alterações micro-estruturais no amálgama. Além das terapêuticas longas, outros factores parecem estar relacionados com este aumento potencial de libertação de mercúrio do amálgama, nomeadamente, a idade da restauração, a existência de superfícies não polidas e o pH ácido de alguns agentes branqueadores (Rotstein *et al*, 2004; Steinberg *et al*, 2003). A cor do amálgama pode também sofrer alterações de negro para cinza, dependendo do tipo de amálgama (Hummert *et al*, 1992; Rotstein *et al*, 2004).

No entanto, outros estudos concluem que nem todas as combinações entre tipos de amálgama e produtos de branqueamento têm como consequência um aumento da libertação de mercúrio, não havendo qualquer efeito nas restaurações (Schemehorn *et al*, 2004; Ulukapi *et al*, 2003).

As coroas ou inscrustações em cerâmica sofrem alterações insignificantes quando em contacto com os produtos de branqueamento (Hunsaker *et al*, 1990; SCCP, 2006; Schemehorn *et al*, 2004; Turker *et al*, 2003).

Também não há qualquer alteração descrita produzida pelos produtos de branqueamento sobre o ouro (SCCP, 2006; Schemehorn *et al*, 2004).

Relativamente aos ionómeros de vidro, existem alguns estudos que apontam para uma modificação da sua matriz de hidrogel quando expostos à acção dos produtos de branqueamento. Outros materiais de cimentação podem também ser afectados, por erosão da sua matriz ou por formação de cristais (Jefferson *et al*, 1991). Alguns autores referem que altas concentrações de agente de branqueamento podem induzir degradação da superfície, aumento da libertação de iões flúor e modificações no coeficiente de expansão dos ionómeros de vidro (Attin *et al*, 2004; Turker *et al*, 2003). Existem alguns estudos que referem estes materiais como sendo resistentes à dissolução que, eventualmente, o peróxido de hidrogénio a 6% poderia provocar nos mesmos (Mair *et al*, 2004). A cor destes materiais não se modifica em contacto com os produtos de branqueamento (Kwon *et al*, 2003)

Os materiais de restauração provisórios podem também ser afectados, nomeadamente o óxido de zinco e eugenol. Este tipo de produtos quando exposto ao peróxido de hidrogénio apresenta fissuras e desgaste, enquanto a exposição ao peróxido de carbamida não parece exercer nenhum destes efeitos (Baratieri *et al*, 1993).

As coroas provisórias de metilmetacrilato, quando expostas aos produtos de branqueamento, podem sofrer alterações de cor e tornando-se alaranjadas, enquanto as coroas de policarbonato não sofrem qualquer alteração da sua cor (Robinson *et al*, 1997).

1.8.2 - Efeitos sobre a mucosa esofágica, gástrica e intestinal

Na maioria das terapêuticas de branqueamento, principalmente nas terapêuticas em ambulatório, existe um risco real de ingestão do produto de branqueamento. A questão prende-se em saber qual a quantidade de produto de branqueamento que se pode ingerir sem causar danos nos diversos tecidos do tracto gastrointestinal (Li, 1998).

Alguns condicionantes da própria técnica podem levar a um maior risco de ingestão do produto, nomeadamente a não existência de reservatório nas moldeiras individuais, o que implica uma perda maior de produto através da moldeira.

Existem poucos estudos relativamente aos efeitos das terapêuticas de branqueamento na mucosa esofágica e gástrica em consequência da ingestão de produtos de branqueamento. Alguns estudos em animais referem que o contacto do peróxido de hidrogénio com a mucosa oral induz a formação de vesículas e ulceração, acompanhadas de edema (Rotstein *et al*, 1993)

Um estudo em ratos, aos quais foram administrados doses únicas de 5g por Kg de peso de peróxido de carbamida em concentrações de 10%, 15% e 35%, demonstraram toxicidade aguda em todos os grupos. A gravidade da toxicidade é tanto maior quanto maior é a dose administrada, ocorrendo, no entanto, depressão respiratória, redução do aumento de peso e do consumo de água e alimento e modificações no ciclo circadiano. Histologicamente observaram-se áreas de necrose da mucosa gástrica e dilaceração das glândulas gástricas. Bioquimicamente apresentaram hematócritos elevados. No grupo ao qual foi administrado o peróxido de carbamida em concentração mais elevada, alguns morreram com hemorragia gástrica (Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 2003). Outro estudo refere a morte de vários animais duas horas após a ingestão de 5g por Kg de peso de peróxido de carbamida a 6% (Redmond *et al*, 1997).

Alguns estudos em animais demonstraram o aparecimento de lesões gástricas, com ulcerações e formação de vesículas, poucas horas após a ingestão do produto de branqueamento. Decorridas 24h iniciou-se o processo de regeneração da mucosa,

revelando uma análise histológica normal ao fim de 1 semana (Redmond *et al*, 1997; Rotstein *et al*, 1993). Alguns autores referem, ainda, que estas lesões são mais evidentes com a administração de peróxido de hidrogénio quando comparado com o peróxido de carbamida, devido, provavelmente, à presença de carbopol que aumenta a aderência aos tecidos e retarda a sua decomposição, bem como, ao efeito hidrofóbico do gel. (Dahl *et al*, 1995; Weiner *et al*, 2000). Outros estudos demonstram que a presença de catalase reduz drasticamente a reacção tecidular patológica em consequência da exposição aos peróxidos de hidrogénio e de carbamida (Rotstein *et al*, 1993; Weiner *et al*, 2000)

Estudos clínicos concluem que os produtos de branqueamento dentário podem ter um efeito laxante sobre a mucosa intestinal, devido à sua composição ter por base a glicerina (Ünlü *et al*, 2004).

A utilização de produtos em regime de venda livre por doentes com patologias gástricas e esofágicas pode potenciar as mesmas, devido à facilidade de ingestão deste tipo de produtos, quer seja pela desadaptação da moldeira, quer seja pelo aumento da secreção salivar (Kugel *et al*, 2000; Minoux *et al*, 2008).

As colorações por tetraciclinas, como foi referido atrás, são colorações com um padrão muito diferenciado, não sendo casos clínicos ideais para as terapêuticas de branqueamento pela técnica nocturna em ambulatório. No entanto, há alguns estudos que referem sucesso clínico considerável em colorações severas por tetraciclinas com a técnica referida, por períodos com duração de 3 a 6 meses e controlos mensais pelo médico dentista. (Fischer, 2000a; Haywood *et al*, 1997; Leonard *et al*, 2003). Existem alguns estudos longitudinais efectuados em casos clínicos com colorações por tetraciclinas, nos quais foram prescritas terapêuticas em ambulatório durante 6 meses (Matis *et al*, 2006). Os efeitos secundários mais evidentes e mais comuns referidos pelos pacientes foram o aumento da sensibilidade dentária e ulcerações da gengiva e mucosa oral temporários (Leonard *et al*, 1999; Matis *et al*, 2006). No entanto, e principalmente em terapêuticas prolongadas como as referidas, é necessário uma

monitorização mais controlada do doente e, o desenvolvimento de mais estudos clínicos e experimentais para avaliar a existência e extensão das lesões nos tecidos moles orais e ao longo de todo o sistema digestivo.

1.8.3 - Efeitos carcinogénicos ou citotóxicos

O peróxido de hidrogénio como um metabolito intermediário normal, é produzido no fígado humano numa quantidade de aproximadamente 6,48 g por dia. Em conjunto com os seus produtos metabólicos, particularmente os radicais livres, o peróxido de hidrogénio tem uma significativa importância fisiológica e está implicado em diversas reacções com consequências biológicas (Greenwall *et al*, 2001; Tam, 1999). As células fagocitárias (neutrófilos e macrófagos) são uma importante fonte de peróxido de hidrogénio endógeno, e têm um papel essencial na defesa contra vários microorganismos patológicos. As actividades oxidativas do peróxido de hidrogénio produzem biomoléculas capazes de inactivar alguns vírus e bactérias (Greenwall *et al*, 2001).

Por outro lado, as reacções de oxidação dos radicais livres com proteínas, lípidos, e ácidos nucleicos podem ter um elevado número de consequências com potencial patológico. Para prevenir este potencial risco de danos celulares durante as reacções oxidativas actuam enzimas, como a catalase, a superóxido dismutase e a peroxidase entre outras, que estão presentes nos fluidos biológicos, tecidos e órgãos, metabolizando o peróxido de hidrogénio (Greenwall *et al*, 2001). A saliva humana contém estas enzimas, existindo alguns estudos que sugerem mesmo a peroxidase salivar como um dos mais importantes e efectivos mecanismos de defesa contra os efeitos secundários potencialmente adversos do peróxido de hidrogénio (Li, 2003; Tam, 1999). Estes factos são corroborados por diversos estudos consensuais nos quais o contacto directo com o peróxido de hidrogénio induz efeitos genotóxicos em bactérias e culturas de células (IARC, 1999; Tredwin *et al*, 2006). No entanto, quando o peróxido

de hidrogénio é administrado a essas bactérias e culturas celulares, na presença de catalase e outras enzimas, o efeito é reduzido ou mesmo eliminado (Greenwall *et al*, 2001; Rotstein *et al*, 1993; Tredwin *et al*, 2006). Os testes elaborados com peróxido de hidrogénio com o objectivo de verificar os efeitos genotóxicos sistémicos em animais, não revelam *in vivo* evidência de mutagenicidade (Adam-Rodwell *et al*, 1994; Dahl *et al*, 2003; DeSesso *et al*, 2000; Greenwall *et al*, 2001; Munro *et al*, 2006).

Em teoria, os radicais livres formados pela degradação do peróxido de hidrogénio são capazes de provocar danos no DNA, no entanto, este potencial genotóxico depende da acessibilidade dos radicais ao DNA alvo, e da capacidade de resposta dos mecanismos de defesa (Greenwall *et al*, 2001; Zouain-Ferreira *et al*, 2002).

Alguns estudos *in vivo* sugerem que, quando ingerido 0,1 e 0,4% de peróxido de hidrogénio, aumenta a incidência de carcinomas duodenais no murganho. Quando a concentração é de 1,5% aumenta a carcinogenicidade de um conhecido carcinogénio no jejuno e duodeno de ratos. Com 3% e 30% aumenta a incidência de carcinomas da mucosa jugal de hamsters (Dahl *et al*, 2003; DeSesso *et al*, 2000; Tam, 1999). Outros estudos demonstram que o peróxido de hidrogénio tem algum potencial de indução carcinogénica local (Mahony *et al*, 2006). O mecanismo permanece pouco claro, mas a acção genotóxica não pode ser excluída, já que os radicais livres formados a partir do peróxido de hidrogénio são capazes de provocar danos no DNA, agindo como promotores tumorais (Dahl *et al*, 2003). A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) concluiu que a evidência de carcinogenicidade do peróxido de hidrogénio é limitada em experimentações animais e inadequada em humanos, classificando-o no grupo 3: inclassificável como carcinogénio em humanos (IARC, 1999). O potencial genotóxico do peróxido de hidrogénio também foi avaliado pelo *Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products* (SCCNFP), que concluiu que o peróxido de hidrogénio em terapêuticas de branqueamento dentário não deve exceder a concentração de 3,6% (que corresponde a 10% de peróxido de carbamida). Os produtos de branqueamento dentário que contenham mais de 0,1% de peróxido de hidrogénio (0,3% de peróxido de carbamida) devem ser exclusivamente administrados

com o controlo do médico dentista (Li, 2000). Este Comité concluiu, também, que o risco potencial de cancro oral não está aumentado em doentes que efectuem terapêuticas de branqueamento com produtos dentro das concentrações referidas, havendo, no entanto, um risco aumentado em doentes com hábitos tabágicos, alcoólicos e com pré-disposição genética (Mahony *et al*, 2006; SCCNFP, 1999). Outros autores referem que em doentes destes grupos referidos, o risco não está aumentado desde que se efectuem os tratamentos nas concentrações recomendadas e por curtos períodos de tempo (30 a 60 minutos por dia) (Collet *et al*, 2001; Munro *et al*, 2006)

Alguns estudos *in vitro* demonstraram que os peróxidos de hidrogénio e de carbamida se difundem rapidamente (em minutos) através da dentina em concentrações suficientes para produzirem citotoxicidade. Esta citotoxicidade depende, fundamentalmente, da concentração de peróxido presente nos agentes branqueadores (Lee *et al*, 2006; Newman *et al*, 1995). Outros estudos referem que estes produtos penetram rapidamente no esmalte, alcançando o tecido pulpar em alguns minutos. Os estudos *in vivo* demonstraram efeitos adversos no tecido pulpar, corroborando as preocupações crescentes da utilização destes materiais em terapêuticas de longo prazo (Craig *et al*, 2002)

Alguns estudos realizados na Universidade de Carolina do Norte (USA) indicam que a dose letal para produtos de branqueamento com peróxido de carbamida a 10% em ratos, é de 87,18 a 143,8 mg/Kg. Extrapolando estes resultados para o humano com 75 Kg de peso, a dose letal média seria de 6,5 a 8 litros (Busato *et al*, 2002).

Em doentes que consomem álcool e tabaco, deverá ser considerado a não realização da terapêutica ou, pelo menos, a ausência de consumo destas substâncias durante a mesma. Estes produtos podem ser aditivos de carcinogenicidade, pois o peróxido tem um potencial mutagénico e pode exacerbar os efeitos dos carcinogénicos conhecidos (Francischone *et al*, 2005; Newman *et al*, 1995; SCCNFP, 1999). A utilização prolongada do peróxido de hidrogénio em concentrações elevadas pode causar destruição celular, ou não ocorrendo esta situação limite, pode potenciar os efeitos

carcinogénicos dos carcinogénios através da reactividade oxidativa dos radicais livres (ADA, 2003; Busato *et al*, 2002; Dale *et al*, 2002; Li *et al*, 2003; Naik *et al*, 2006; Newman *et al*, 1995). Quer o peróxido de carbamida quer o de hidrogénio, podem ser coadjuvantes no desenvolvimento de displasias ou neoplasias epiteliais malignas. Como na mucosa oral actuam inúmeros agentes carcinogénicos como sejam: os produtos derivados do tabaco, o álcool, os raios solares, os produtos químicos dos alimentos agrotóxicos, os conservantes, os aromatizantes, os vírus, entre outros, qualquer efeito carcinogénico tem real significado pelo somatório da actividade carcinogénica existente (Francischone *et al*, 2005; SCCNFP, 1999)

As terapêuticas de branqueamento com produtos em regime de venda livre são da responsabilidade dos doentes. Estes, automedicados, sem diagnóstico e controlo correm todos os riscos inerentes a esta prática (Haywood, 2003; Li, 2000; Li, 1998). Existem algumas situações clínicas que pressupõem maiores riscos, como são a utilização destes estojos por doentes grávidas ou em período de aleitamento, já que não se conhecem os efeitos dos produtos de branqueamento sobre o feto ou o recém-nascido (ADA, 2003; Dale *et al*, 2002; Garber *et al*, 1991). O mesmo se verifica em doentes fumadores, correndo os riscos já referidos (ADA, 2003; Dale *et al*, 2002; Tam, 1999).

Esta terapêutica não é recomendada em doentes com dentição decídua e mista, por não serem conhecidos os efeitos adversos que ocorrem nesta faixa etária, já que existe pouco suporte científico e de investigação (AAPD, 2004; Tam, 1999).

Existem alguns casos descritos de exposição humana por ingestão do produto de branqueamento, principalmente em crianças. O efeito citotóxico letal é alcançado com doses mais baixas de produto, cerca de 300 a 600 mg por Kg de peso, dependendo da concentração deste. Nestes casos descritos, os sintomas mais precoces são as náuseas e vómitos e a distensão abdominal, evoluindo para quadros clínicos graves com cianose, convulsões, edema pulmonar e falência cardiorespiratória (Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 1995; SCCP, 2005). Outros casos de ingestão de produto de branqueamento não fatais demonstraram ulcerações da mucosa oral, esofágica e gástrica, hemorragias e efeitos neurológicos (Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 2003).

1.9. CONSIDERAÇÕES LEGAIS

Em 1991, a *Food and Drug Administration* (FDA) iniciou estudos de investigação sobre esta terapêutica e os diversos produtos utilizados, reclassificando-os como medicamentos e não como químicos (designados até essa data) (Li, 1996). Esta decisão é consequência das preocupações crescentes sobre a utilização sem controlo dos produtos de branqueamento em regime de venda livre (Dunn, 1998)

Em 1994 a *American Dental Association* (ADA) estabeleceu as linhas orientadoras da segurança e eficácia dos produtos de branqueamento. Actualmente, são reconhecidos pela ADA três tipos de produtos de branqueamento contendo peróxido de hidrogénio e avalizados para utilização em ambulatório: (Dunn, 1998; Tam, 1999)

1. Antisépticos orais de venda livre, para curtos períodos de utilização;
2. Agentes de branqueamento contendo peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogénio a 3% que podem ser prescritos por um médico para utilização em ambulatório;
3. Dentífricos de venda livre com baixas concentrações de peróxido de hidrogénio e peróxido de cálcio.

As linhas de orientação da ADA requerem que os fabricantes submetam os seus produtos de branqueamento a estudos clínicos em humanos, para testar a eficiência e eficácia dos mesmos; e estudos científicos sobre os seus efeitos nos tecidos duros dentários e nos tecidos moles (Dunn, 1998). Em termos de prática clínica a ADA recomenda que a utilização de produtos de branqueamento seja administrada por médicos dentistas em consultórios ou clínicas, dispensados por estes para as terapêuticas em ambulatório e eventualmente prescritos pelos mesmos no caso da utilização de produtos em regime de venda livre (Tam, 1999). A ADA recomenda, também que, os doentes sejam seguidos por um período mínimo de 6 meses após o tratamento, para avaliação de cor e os efeitos secundários. Todos os produtos utilizados nas diferentes terapêuticas de branqueamento e com diferentes concentrações devem ter o selo de homologação da ADA (ADA, 2008; Tam, 1999).

Na Europa, a polémica da legalidade da comercialização de produtos de branqueamento foi aberta em 1976, quando a directiva 76/768/EEC da Comunidade Europeia classificou os produtos de branqueamento como produtos cosméticos. As Regulamentações dos Produtos Cosméticos de 1996 (parágrafo 4(2)) expõem que “nenhum indivíduo deve ter acesso a produtos cosméticos que contenham..... alguma substância listada na coluna 2 do quadro 2....”. Este quadro 2 expõe, entre outras referências, que os produtos cosméticos não devem conter “peróxido de hidrogénio e outros componentes ou misturas que libertem peróxido de hidrogénio, incluindo peróxido de hidrogénio-ureia (peróxido de hidrogénio-carbamida) e peróxido de zinco, para serem propostos como ‘produtos de higiene oral’, a não ser num máximo de concentração de peróxido de hidrogénio no produto em causa de 0,1%, presente ou libertado” (Morris, 2003).

Desde aí, a polémica tem vindo a agudizar-se, principalmente em Inglaterra, mas também discutida em vários outros países Europeus, começando pela simples classificação dos produtos de branqueamento. Existem dois entendimentos quanto a esta classificação. Um incluiu-se no âmbito da cosmética, outro como produto médico. As definições são confusas, e os produtos de branqueamento encaixam na definição de ambos os tipos.

Os produtos que contenham substâncias ou preparações que poderão ser ingeridas, inaladas, injectadas ou implantadas no corpo humano, não podem ser classificados como cosméticos. Esta é uma das definições para os produtos médicos. Muitos juristas e especialistas concordam com o facto de os produtos de branqueamento serem apenas substâncias que são utilizadas em várias partes externas do corpo humano, sendo apenas colocadas em contacto com os dentes, as gengivas e membranas mucosas da cavidade oral, classificando-se como cosméticos. No entanto, este pressuposto pode não ser considerado totalmente verdade, porque uma má utilização dos acessórios ou uma incorrecta manipulação dos mesmos pode, por exemplo, levar à ingestão de produto de branqueamento, estando, nessas circunstâncias, na definição de produto médico.

No entanto, mesmo que os produtos de branqueamento sejam considerados como produtos cosméticos, as moldeiras individuais efectuadas a partir dos modelos das arcadas dos doentes para tratamentos de branqueamento em ambulatório, são da competência do médico dentista. Outras preparações necessárias para efectuar um tratamento de branqueamento em consultório também só podem ser manipuladas por médicos dentistas. Assim, mesmo que o gel seja considerado um produto cosmético, continuam a ser necessários diversos objectos ou preparações acessórias realizadas pelo médico dentista.

Em Inglaterra, a partir de 1998, foi proibida a utilização e prescrição pelos médicos dentistas de qualquer tipo de produto de branqueamento que não tenha a marca CE (*Communauté Européen*). No entanto, na Alemanha, as autoridades questionam a validade da marca CE nos produtos de branqueamento dentário (Dahl *et al*, 2003; Touati *et al*, 1999).

Em 2000 foram legalizadas em Inglaterra as prescrições de tratamentos de branqueamento, desde que os produtos utilizados estejam regulamentados, como é exemplo o peróxido de carbamida a 10%.

Em Dezembro de 2007, a *Scientific Committee on Consumer Products* (SCCP) especificou que o risco associado à utilização de produtos de branqueamento contendo 0,1% a 6% de peróxido de hidrogénio aumenta com o aumento da concentração e frequência de aplicação, não sendo possível controlar estes riscos, já que estes produtos são de venda livre e directamente disponíveis ao consumidor (CED, 2008). Os potenciais riscos podem ser reduzidos se os produtos forem utilizados após um exame médico e se a exposição em termos de frequência e duração de aplicação for limitado (CED, 2007; Pretty *et al*, 2006).

Em Novembro de 2008, O *Council of European Dentists* (CED) aprovou uma resolução na qual partilha a opinião da SCCP de que os produtos de branqueamento dentário contendo peróxido de hidrogénio entre 0,1% e 6% não devem ser de venda livre e só podem ser utilizados após aprovação e supervisão pelo médico dentista. O CED apoia,

também, a decisão da Comissão Europeia no sentido de não permitir a venda livre destes produtos, concordando que qualquer aumento do limite máximo de peróxido de hidrogénio nestes produtos de venda livre deverá ser determinado pelo SCCP, com base em dados actualizados relativamente à segurança (CED, 2008)

Nesta resolução aprovada em 2008, o CED considera que os produtos de branqueamento dentário devem ser regulados em concordância com um regime que defina o branqueamento como um procedimento clínico, protegendo os consumidores de um acesso directo a estes produtos potencialmente perigosos, sem a supervisão do médico dentista. Assim garante-se a sua distribuição controlada a profissionais de saúde ou a sua sujeição a receita médica. O CED considera que a Directiva e Recursos Médicos cumpre todos os critérios acima nomeados, devendo por isso, alterar a regulamentação dos produtos de branqueamento para esta directiva, deixando de ser considerados produtos cosméticos (CED, 2008).

Em Fevereiro de 2009, a Comissão Europeia de acordo com as diretrizes do *European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals* (ECETOC) continuou a considerar os produtos de branqueamento dentário como 'produtos cosméticos', não tendo, assim, sido alterada a legislação de regulamentação dos mesmos, como era o objectivo do CED e da SCCP.

2 - ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL

2.1 - OBJECTIVOS DO ESTUDO

As terapêuticas de branqueamento são efectuadas com técnicas amplamente utilizadas e já há muito conhecidas. Os produtos de branqueamento usados, na sua base, são-no há já muitos anos. Portanto, o branqueamento dentário é uma alternativa estética às terapêuticas conservadoras de dentes escurecidos e/ou manchados. No entanto, estas técnicas apresentam algumas limitações, especialmente no que se refere à visualização dos resultados imediatos e à manutenção dos resultados a longo prazo.

As diversas técnicas de branqueamento têm vários graus de risco e efeitos secundários diversos para o doente, dependendo do tipo de técnicas utilizadas e da regularidade de controlo destas pelo médico dentista, como descrito anteriormente; e das diferentes concentrações dos princípios activos utilizados, principalmente os peróxidos em concentrações mais elevadas. Os efeitos efectivos destas concentrações mais elevadas nas mucosas orais, esofágicas, gástricas e intestinais ainda não estão estudados em profundidade, pois estas concentrações são utilizadas há relativamente pouco tempo.

Ao realizar esta terapêutica é fundamental ter presente a história clínica do paciente, pois a presença de qualquer patologia do sistema digestivo pode ser uma contra-indicação, já que há um risco aumentado de agravamento dessa patologia independentemente da quantidade de produto ingerido (por menor que seja pode agravar a situação clínica destes doentes). Esta situação clínica não está estudada e não é referenciada nos estudos sobre esta terapêutica. Perante esta lacuna na investigação dos produtos de branqueamento, pareceu-nos importante testá-los em animais em que tenha sido induzida patologia digestiva.

Neste trabalho experimental foi utilizado o peróxido de hidrogénio a 6%, já que este é um produto menos estudado do que o peróxido de carbamida. Na generalidade dos estudos o peróxido de hidrogénio tem, também, mais efeitos secundários, e se até aqui era usado apenas na prática clínica no consultório médico, portanto sempre manipulado por um médico dentista, desde há alguns anos até esta parte existe em novas fórmula para utilização em ambulatório pelos pacientes, correndo maior risco dos seus potenciais efeitos secundários surgirem.

Este estudo experimental teve como objectivo **observar os efeitos de um produto de branqueamento dentário, cujo princípio activo é o peróxido de hidrogénio a 6%, na mucosa gástrica de animais saudáveis e com patologia gástrica não tumoral.**

2.2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 - Animais e condições de experimentação

Este projecto de investigação foi avaliado por uma Comissão Consultiva para a Protecção dos Animais utilizados para fins experimentais e/ou outros fins científicos, prevista na alínea b) do nº 49 da Portaria nº 1005/92, de 23 de Outubro, tendo sido autorizada a sua realização. De igual modo, a Direcção Geral de Veterinária, Direcção de Serviços de Meios de Defesa da Saúde, Bem-Estar e Alimentação Animal, autorizou a sua realização.

Este trabalho de investigação decorreu no Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e no Instituto de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Neste trabalho de investigação utilizaram-se 50 ratos machos albinos, da estirpe “Wistar Han”, com 8 semanas de idade, com cerca de 250 gramas de peso médio (Pass *et al*, 1993).

Durante a fase experimental, os animais foram mantidos em condições laboratoriais normalizadas, de acordo com a legislação em vigor (Portaria 1005/92, de 23 de Outubro; Portaria 1131/97 de 7 de Novembro).

Todos os animais foram observados diariamente. A equipa de investigação que tratou dos animais usou todas as medidas adequadas para se proteger de qualquer contaminação a partir dos animais e também, impedir a sua contaminação. Realizou-se um registo individual de todos os animais, diariamente actualizado. Durante todo o tempo em que decorreu a experiência, foram efectuados registos semanais do peso do animal e registos diários de qualquer alteração comportamental visível. Os animais estiveram alojados em gaiolas adequadas à espécie, permanecendo 2 a 3 animais por gaiola. A dieta consistiu numa ração completa de granulado *standard* para roedores de laboratório e água acidificada num regime *ad libitum*, sendo sujeitos às mesmas condições ambientais.

2.2.2 - Materiais

Os materiais utilizados neste trabalho experimental foram o produto de branqueamento, Colgate® “Visible White”™ (Colgate Oral Pharmaceuticals Inc, New York, USA).



Figura 1 – Produto de branqueamento Colgate® “Visible White”™ – estojo comercial

Este produto de branqueamento utilizado no trabalho experimental descrito à frente, tem como ingredientes: glicerina, água, peróxido de hidrogénio, carbopol, hidróxido de

sódio, PVP, aroma, nitrato de potássio, sacarina de sódio, fluoreto de sódio e disódio EDTA.

A concentração de peróxido de hidrogénio é de 6% (comparável com 20% de peróxido de carbamida) e apresenta-se em forma de seringas com 3,11g cada. O pH deste produto é, segundo o fabricante, de 6,3. O estojo comercial (Figura 1) apresenta, para além das seringas do produto de branqueamento, uma caixa para colocação das moldeiras individualizadas e as instruções para o doente e para o médico dentista. (Apêndice 8 e 9)

Para a indução de patologia gástrica não tumoral em alguns animais de determinados grupos experimentais utilizou-se uma solução de etanol a 50% (Figura 2) coadjuvada com a introdução de etanol a 5% na água da dieta.

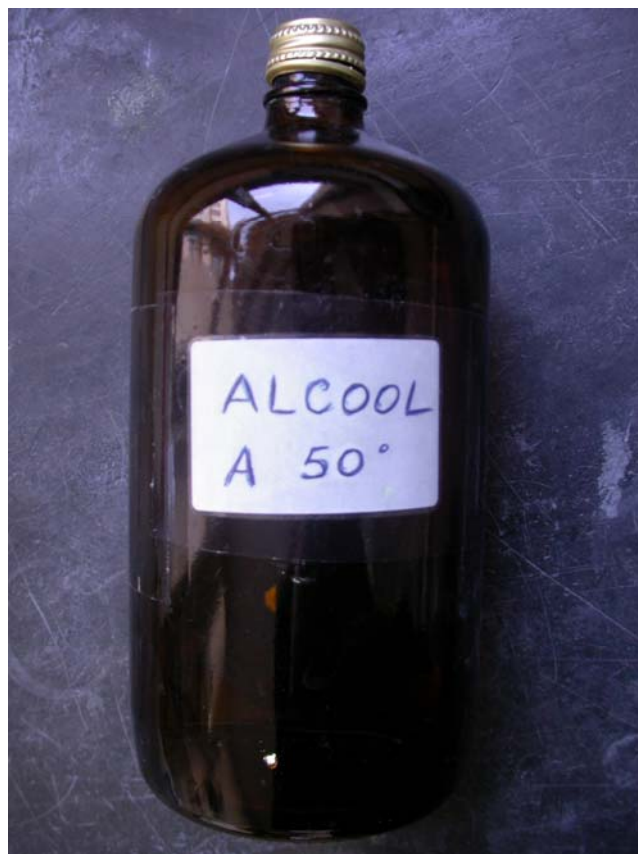


Figura 2 – Frasco de etanol a 50%.

2.2.3 - Protocolo Experimental

Na 1ª semana, os 50 animais estiveram em quarentena, todos submetidos às condições normais de manutenção e nutrição, com uma temperatura ambiente de 22°C e ciclos de 12h/12h de luz/escuro. Antes dos períodos seguintes, os animais ficaram 24h em jejum, apenas com acesso permanente a água.

Os períodos II e III, que decorreram na 2ª e 3ª semanas do trabalho de investigação, os animais dos grupos III, IV e V foram sujeitos ao protocolo de indução de patologia gástrica não tumoral e/ou administração de produto de branqueamento.

Assim, realizámos 5 grupos experimentais com 10 animais cada, sendo:

1. O grupo I, grupo de animais saudáveis ou controlo, onde não foi efectuada qualquer manipulação;
2. O grupo II, grupo de animais saudáveis, no qual se administrou o produto de branqueamento. Este grupo foi dividido em dois sub-grupos, sendo no subgrupo A administrado o produto de branqueamento apenas na 2ª semana e no sub-grupo B administrado apenas na 3ª semana. Cada sub-grupo foi constituído por 5 animais.
3. O grupo III, grupo de animais saudáveis, no qual se induziu patologia gástrica não tumoral durante a 2ª semana e se administrou o produto de branqueamento na 3ª semana;
4. O grupo IV, grupo de animais saudáveis, no qual se administrou produto de branqueamento na 2ª semana e se induziu patologia gástrica não tumoral durante a 3ª semana;
5. O grupo V, grupo de animais saudáveis, no qual se induziu patologia gástrica não tumoral. Este grupo foi dividido em dois sub-grupos, sendo no sub-grupo A a lesão induzida apenas na 2ª semana e no sub-grupo B apenas induzida na 3ª semana. Cada subgrupo foi constituído por 5 animais.

No período IV, todos os animais foram sacrificados.

Em seguida resume-se esquematicamente o procedimento experimental realizado nos vários grupos:

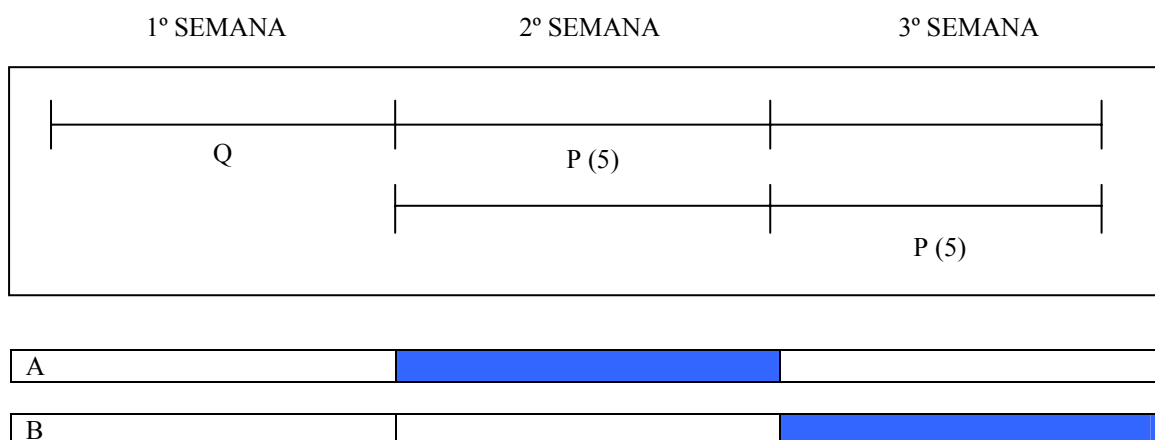
(Q – quarentena; P – administração de peróxido de hidrogénio; L – indução de patologia gástrica não tumoral)

	INDUÇÃO DE LESÃO GÁSTRICA
	ADMINISTRAÇÃO DE PRODUTO DE BRANQUEAMENTO

GRUPO I – 10 ANIMAIS



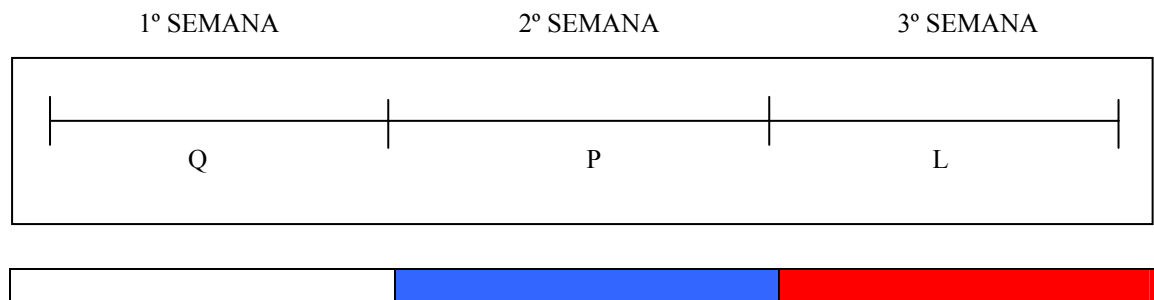
GRUPO II - (CADA SUBGRUPO COM 5 ANIMAIS – TOTAL 10 ANIMAIS)



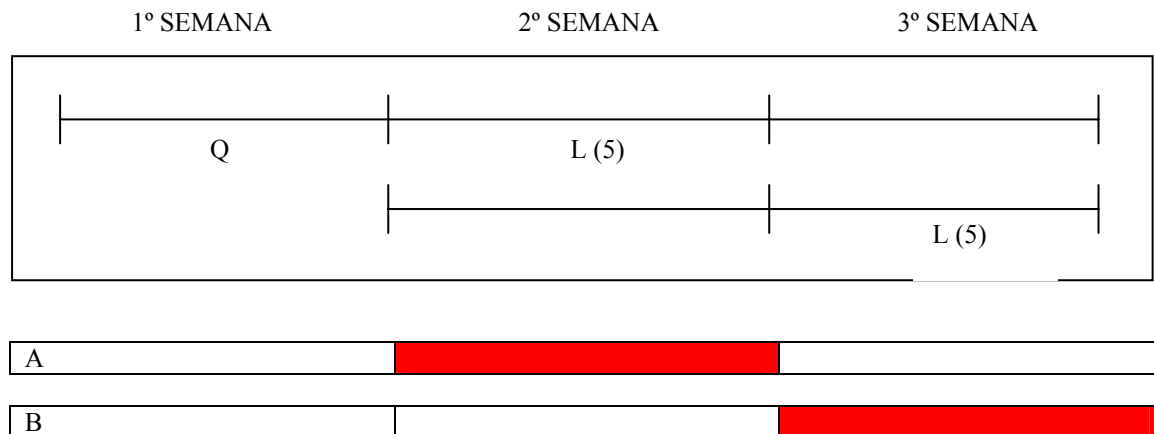
GRUPO III - (10 ANIMAIS)



GRUPO IV - (10 ANIMAIS)



GRUPO V - (CADA SUBGRUPO COM 5 ANIMAIS – TOTAL 10 ANIMAIS)



2.2.3.1 - Indução de Patologia Gástrica não Tumoral

A indução foi efectuada através da utilização de uma substância química que foi administrada aos animais em dose única, no primeiro dia da semana de indução da patologia gástrica não tumoral, de 1 ml de etanol a 50% via intragástrica (por gavagem), seguida do acesso livre a dieta em ração e água com 5% de etanol durante os 6 dias subsequentes. No final da aplicação deste modelo, os animais deverão apresentar gastrite crónica (Birdane *et al*, 2007; Chang *et al*, 2007; Konjevoda *et al*, 2000; Lambrecht *et al*, 1993; Liang-jing *et al*, 2006; Munõz *et al*, 2000; Xiang *et al*, 2004).

Estes procedimentos foram efectuados durante os tempos experimentais assinalados anteriormente, nos grupos III, IV e V.

Para se cumprir o protocolo experimental referido acima, as doses de etanol a 50% administradas no 1º dia de indução de patologia diferiram de acordo com o peso de cada animal nesse mesmo dia. A Tabela 1 mostra as doses administradas a cada animal dos grupos referidos no protocolo experimental.

2.2.3.2 - Procedimentos Terapêuticos

Aos animais dos grupos experimentais II, III e IV, durante os tempos em estudo assinalados anteriormente, foi administrado por via intragástrica (por gavagem) o produto de branqueamento comercial [Colgate® “Visible White”™ (Colgate Oral Pharmaceuticals Inc, New York, USA)] na dose de 1 g/kg de peso durante 7 dias, sempre à mesma hora e pelo mesmo técnico, para se minimizar o aparecimento de eventuais alterações devido ao ciclo circadiano ou à diferente manipulação e administração do produto. Durante as primeiras 3 horas após a administração do produto de branqueamento, a dieta dos animais foi-lhes restringida.

Para se cumprir o protocolo experimental referido acima, as doses de produto de branqueamento administradas diferiram de acordo com o peso de cada animal, e foram ajustadas de 3 em 3 dias, de acordo com novas pesagens dos animais.

A tabela seguinte (Tabela 1) mostra as doses administradas a cada animal, dos grupos referidos no protocolo experimental, de peróxido de hidrogénio a 6% e de álcool a 50%.

Tabela 1 – Valores das doses de peróxido de hidrogénio a 6% e de álcool a 50% administrados consoante o peso do animal ao longo do trabalho experimental.

Grupo / Nº Rato	Peso após 7 dias (gr)	Dose após 7 dias	Peso após 10 dias (gr)	Dose após 10 dias	Peso após 15 dias (gr)	Dose após 15 dias	Peso após 18 dias (gr)	Dose após 18 dias	Peso após 22 dias (gr) (Sacrifício)
I - 1	353	–	355.7	–	371	–	369.3	–	370.4
I - 2	335	–	334.5	–	358	–	356.3	–	355.83
I - 3	350	–	353.9	–	364	–	367	–	370.01
I - 4	348	–	350.4	–	360	–	365.5	–	376.34
I - 5	319	–	323	–	335	–	340.9	–	347.76
I - 6	358	–	361	–	373	–	389.2	–	395.42
I - 7	363	–	365	–	374	–	397.4	–	408.26
I - 8	371	–	366	–	375	–	374.9	–	372.4
I - 9	341	–	344.3	–	352	–	379	–	397.88
I - 10	376	–	384.7	–	392	–	412.4	–	419.26
		Prod. Branq.	Prod. Branq.						
II - A - 1	275	0.27g	323	0.32 g	328	–	329	–	337
II - A - 2	321	0.32g	292	0.29 g	298	–	308	–	307
II - A - 3	304	0.30g	338	0.33 g	349	–	357	–	367
II - A - 4	279	0.27g	318	0.31 g	330	–	344	–	357.2
II - A - 5	313	0.31g	294	0.29 g	305	–	311	–	319
		Prod. Branq.		Prod. Branq.					
II - B - 1	287	–	319	–	333	0.33 gr	342	0.34 gr	337
II - B - 2	276	–	296	–	301	0.3 gr	297	0.29 gr	298.8
II - B - 3	268	–	305	–	297	0.29 gr	272	0.27 gr	273.4
II - B - 4	301	–	334	–	348	0.34 gr	358	0.35 gr	370.6
II - B - 5	297	–	317	–	320	0.32 gr	327	0.32 gr	335
		Álcool a 50%	Álcool a 5% biberão		Prod. Branq.		Prod. Branq.		
III - 1	280	1.12 ml	289	–	289	0.28 gr	284	0.28 gr	313.6
III - 2	300	1.2 ml	294	–	307	0.3 gr	312	0.31 gr	324
III - 3	289	1.15 ml	312	–	317	0.31 gr	325	0.32 gr	336.7
III - 4	310	1.24 ml	304	–	296	0.29 gr	308	0.30 gr	352.7
III - 5	267	1.06	300	–	306	0.3 gr	318	0.31 gr	335.8
III - 6	285	1.14 ml	290	–	301	0.3 gr	308	0.30 gr	330.4
III - 7	307	1.22 ml	animal morreu	–	–	–	–	–	–
III - 8	278	1.11 ml	302	–	305	0.3 gr	310	0.31 gr	330.5
III - 9	276	1.10 ml	256	–	267	0.26 gr	281	0.28 gr	297.8
III - 10	300	1.2 ml	294	–	283	0.28 gr	290	0.29 gr	318.48
		Prod. Branq.	Prod. Branq.		Álcool a 50%		Álcool a 5% biberão		
IV - 1	310	0.31gr	325	0.32 gr	332	1.3 ml	331	–	328.74
IV - 2	280	0.28gr	290	0.29 gr	297	1.18 ml	291	–	289.57
IV - 3	283	0.28gr	307	0.3 gr	317	1.26 ml	318	–	318.75
IV - 4	271	0.27gr	280	0.28 gr	286	1.14 ml	270	–	272.4
IV - 5	270	0.27gr	287	0.28 gr	287	1.14 ml	289	–	275.5
IV - 6	320	0.32gr	322	0.32 gr	337	1.34 ml	298	–	320.26
IV - 7	280	0.28gr	284	0.28 gr	294	1.17 ml	301	–	274.95
IV - 8	293	0.29gr	312	0.31 gr	317	1.26 ml	313	–	281.91
IV - 9	302	0.30gr	311	0.31 gr	309	1.23 ml	314	–	321.45
IV - 10	276	0.27gr	282	0.28 gr	288	1.15 ml	261	–	312.68
		Álcool a 50%	Álcool a 5% biberão						
V - A - 1	303	1.2 ml	307.1	–	318	–	323.44	–	336.45
V - A - 2	274	1.09 ml	281.6	–	291	–	309.5	–	324.31
V - A - 3	285	1.14 ml	285.6	–	293	–	317.8	–	332.67
V - A - 4	315	1.26 ml	320.7	–	335	–	356.9	–	367.62
V - A - 5	300	1.2 ml	303.2	–	318	–	329.23	–	353.2
		Álcool a 50%		Álcool a 5% biberão					
V - B - 1	308	–	307.2	–	317.1	1.27 ml	230.7	–	242.5
V - B - 2	299	–	299.1	–	306	1.22 ml	304.9	–	312.6
V - B - 3	319	–	330	–	350	1.4 ml	356.5	–	375.12
V - B - 4	302	–	312.4	–	329	1.31 ml	animal morreu	–	–
V - B - 5	260	–	270.7	–	280	1.12 ml	299.8	–	310

2.2.3.3 - Eutanásia

De acordo com os grupos experimentais já descritos, os animais foram sacrificados individualmente por estiramento cervical (Figura 3).



Figura 3 – Rato macho albino da estirpe “Wistar Han”

2.2.3.4 - Recolha das amostras

Após a confirmação da ausência de sinais vitais foram observadas e registadas todas as alterações macroscópicas do aspecto externo para cada animal.



Figura 4 – Necrópsia. Posicionamento do animal.

Procedeu-se à pesagem de todos os animais, assim como a sua medição de cabeça-focinho-anûs (CFA) e cabeça-focinho-ponta da cauda (CFP). Após o registo de todos os dados referidos anteriormente, procedeu-se à necrópsia (Figura 4). Esta iniciou-se com uma incisão fúrculo-púbica, desde a forquilha externa até à porção baixa do abdómen (Figura 5).

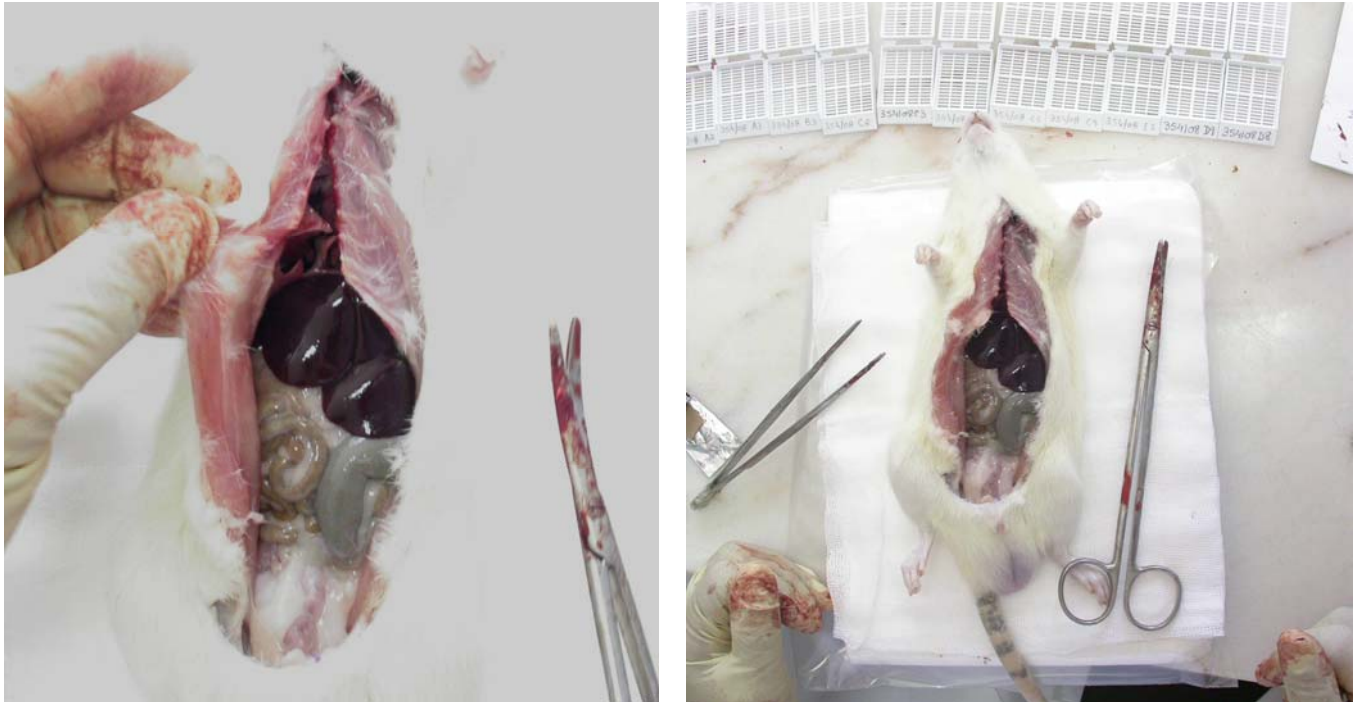


Figura 5 – Necrópsia. Incisão fúrculo-púbica.

Seguidamente a pele foi rebatida e a cavidade torácica e abdominal exposta, depois da incisão das costelas e do peritoneu.

Após a exposição do hábito interno observou-se detalhadamente e efectuou-se um estudo exaustivo com tendência a identificar eventuais lesões macroscópicas nos órgãos (cor, consistência, inspecção e palpação).

Iniciou-se a recolha dos mesmos.

Foram recolhidas amostras de mucosa jugal, língua, mandíbula e orofaringe (Figura 6).



Figura 6 – Necrópsia. Recolha de língua do animal.

Aberta a cavidade torácica foram recolhidas amostras de pulmão e de músculo cardíaco, observadas as suas alterações macroscópicas e, preparados para análise histológica de rotina. Procedeu-se, ainda, à pesagem destes órgãos, sendo o pulmão direito e esquerdo pesado separadamente. O coração, além da pesagem, procedeu-se, também, à sua medição em três dimensões (altura, largura e profundidade).

Foram removidos o esófago e o estômago em bloco, e fotografados. Após a sua separação foram medidas as dimensões do esófago (largura e comprimento) e foram colhidas amostras esofágicas das várias porções do esófago (segmento I, do início cefálico até à bifurcação brônquica; o segmento II, da bifurcação brônquica até ao nível do diafragma; e o segmento III, do nível do diafragma até ao ângulo de His). Do estômago foi retirado todo o seu conteúdo e procedeu-se à sua abertura ao longo da grande curvatura e limpeza com uma solução de lavagem de fragmentos à base de cloreto de sódio para se observarem as suas alterações macroscópicas. Foi

fotografado exaustivamente e registadas todas as suas alterações macroscópicas (Figura 7).

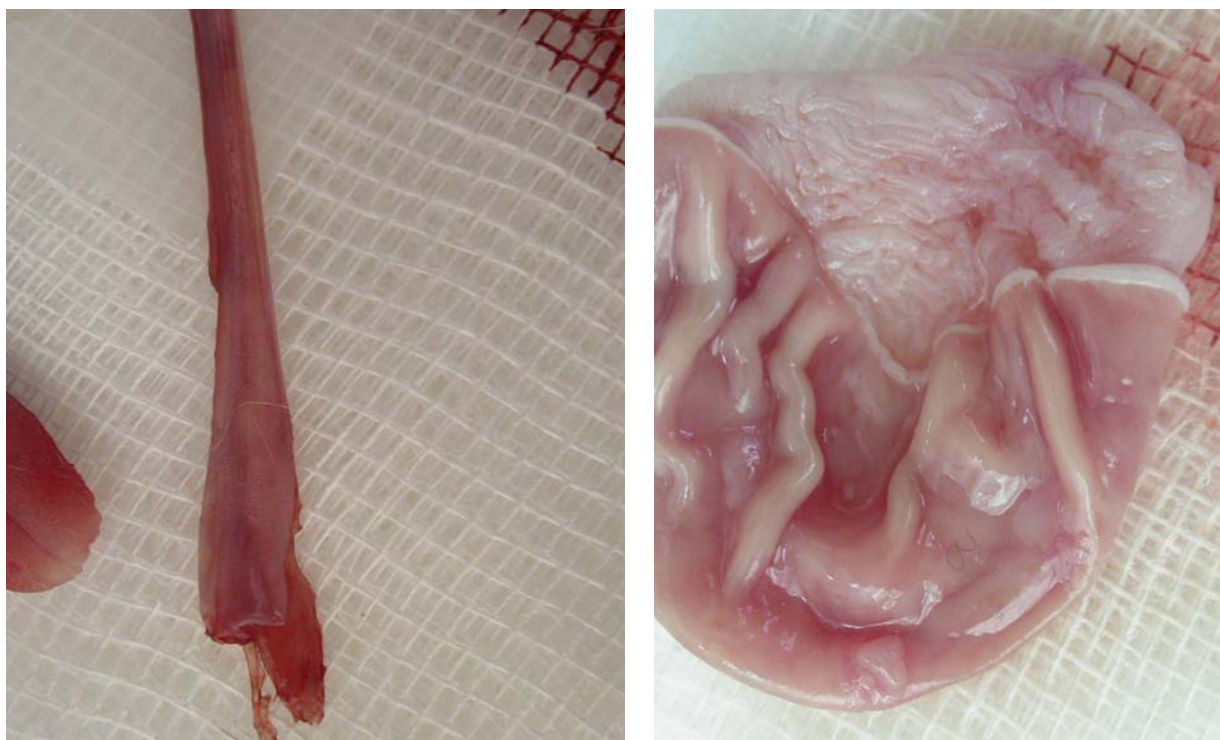


Figura 7 – Esófago e estômago após remoção e limpeza

Da cavidade abdominal foram retiradas amostras de parede do intestino delgado, jejuno sem conteúdo, e porção descendente do intestino grosso sem conteúdo para análise histológica de rotina, tendo, também sido medido o comprimento de todo o intestino grosso. Procedeu-se à pesagem e colheita para análise histológica de rotina, de amostras de fígado (Figuras 8 e 9), rins (Figura 9), glândula supra-renal (Figura 10), gordura perirrenal e próstata.

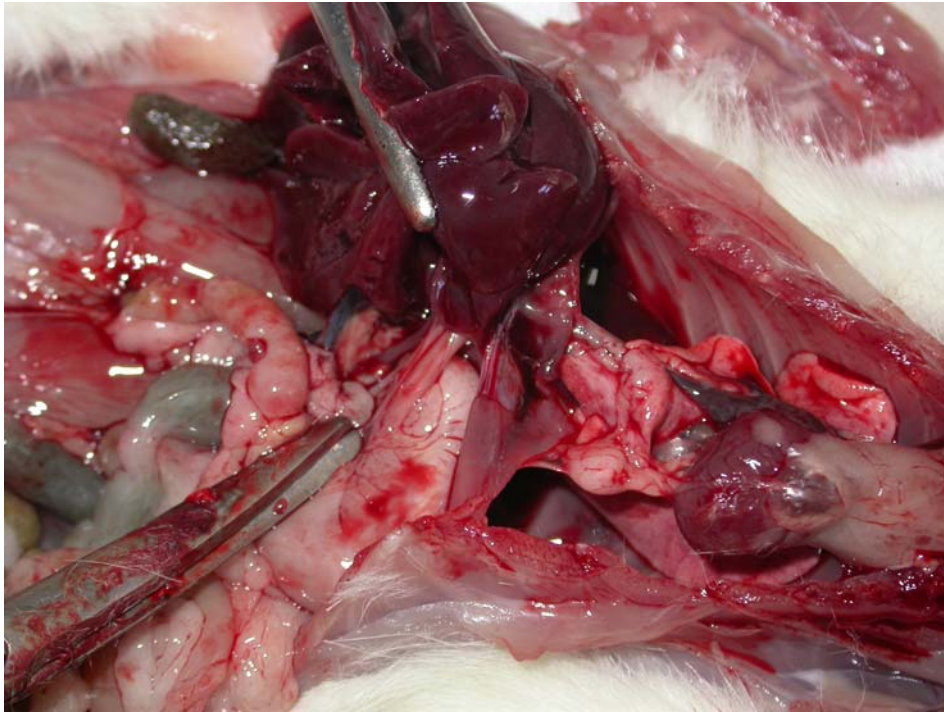


Figura 8 – Remoção do fígado do animal para amostra.



Figura 9 – Recolha do fígado e rim para amostra.

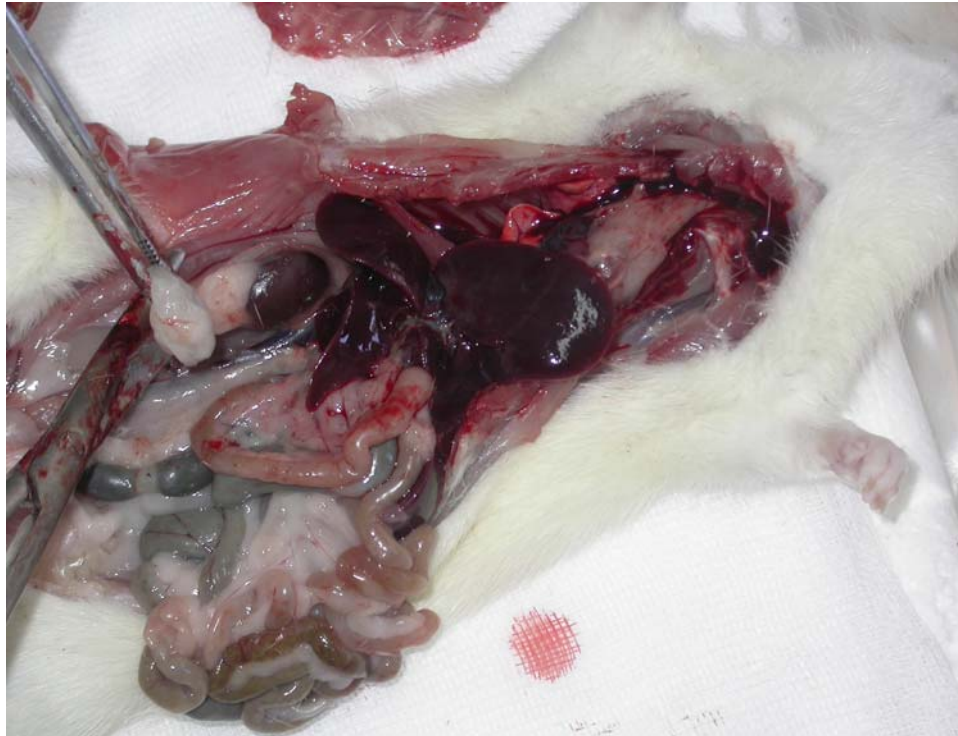


Figura 10 – Remoção de glândula suprarenal do animal para amostra.

Efectuou-se a colheita do baço, tendo sido pesado e medido em 3 dimensões (comprimento, altura e espessura).

Procedeu-se, ainda, à recolha de pâncreas, bexiga, músculo esquelético e órgãos genitais para análise histológica de rotina.

Todas as amostras recolhidas foram imersas de imediato em formaldeído neutro tamponado a 10%, e rotuladas de acordo com o tipo de tecido e o número de registo do Instituto de Patologia Experimental.

A alienação dos cadáveres e dos resíduos procedentes da eutanásia foi providenciada nos termos da legislação em vigor.

2.2.3.5 - Processamento das amostras

As colheitas dos vários os órgãos de todos os animais foram realizadas cumprindo os tempos definidos para que não houvesse alterações *post-mortem* em alguns animais e que não estariam presentes noutros se o tempo de colheita fosse diferente. Assim, a colheita foi efectuada em menos de 20 minutos após a eutanásia.

As amostras recolhidas serão fixadas em formaldeído neutro tamponado a 10%. Como se trata de um fixador relativamente lento, os fragmentos puderam permanecer durante várias horas sem alterações acentuadas, mas não excedendo as 24 a 36 horas, dependendo da espessura dos fragmentos. Os fragmentos mais pequenos, com menos de 1 mm de espessura, foram processados em primeiro lugar, cumprindo os tempos definidos. Os fragmentos foram referenciados com um código pré-estabelecido, que permite uma rápida e inequívoca identificação dos tecidos. A topografia dos fragmentos foi iniciada por um código constituído por uma letra e um dígito. A este dígito foram acrescentados outros, como no caso dos tecidos sobre os quais se debruça o estudo, esófago e estômago, em que existem vários fragmentos de cada órgão. As amostras foram, ainda, rotuladas, como referido anteriormente, com o número de registo do Instituto de Patologia Experimental, para identificação do animal. Esta numeração efectuada foi de acordo com a sequência de eutanásia e necrópsia dos vários animais dos diferentes grupos experimentais.

As amostras foram preparadas para o estudo histológico no Instituto de Patologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Após o período de fixação, estas foram processadas segundo orientação que se programou, ficando o plano da mucosa perpendicular ao plano de corte. O processamento realizou-se sob a forma convencional, tendo sido desidratadas em concentrações crescentes de etanol, e posteriormente incluídas em parafina. Efectuaram-se corte de 5 μ m de espessura, e procedeu-se à sua coloração.

2.2.3.6 - Método de análise

A análise dos resultados foi realizada através de análise macroscópica das diversas alterações observadas e análise histológica.

A análise macroscópica foi realizada ao hábito externo e interno, sendo neste último analisado todos os órgãos nomeados acima durante a descrição da necrópsia, sendo alguns fotografados. No entanto, a análise macroscópica com pesquisa de lesões apenas foi efectuada na mucosa gástrica, tendo sido pesquisados e contabilizados por intensidade os seguintes itens:

- Aspecto normal em toda a extensão da mucosa. (classificação 0)
- Áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação (classificação de 0 a 5)
- Apagamento das pregas da mucosa (classificação de 0 a 5)
- Áreas macroscopicamente correspondentes a hemorragia (classificação de 0 a 5)
- Áreas macroscopicamente correspondentes a necrose/úlceras (classificação de 0 a 3)
- Perfuração da mucosa (classificação de 0 a 10)

Para a análise histológica, a coloração de rotina efectuada, em cada uma das amostras, foi a coloração de hematoxilina-eosina (HE). A observação microscópica destas secções histológicas foi efectuada em microscopia de luz, por um observador independente, tendo sido classificadas conforme os seguintes itens:

- RESPOSTA LIGEIRA,
- RESPOSTA MODERADA,
- RESPOSTA GRAVE.

Esta classificação é baseada na intensidade do infiltrado inflamatório observado.

2.2.3.7 - Análise estatística dos dados

Todos os dados são apresentados na forma de média \pm erro padrão (SE). A influência do tratamento e do tempo nos parâmetros de peso vivo ao longo do estudo e do baço no momento da eutanásia foram avaliados por determinações sucessivas por análise de variância (ANOVA) e, em presença de diferenças significativas, a comparação múltipla de pares de médias ao longo dos tempos em estudo foi realizada através de um teste t de Student. Procedeu-se também à realização de contrastes entre os grupos experimentais submetidos a diferentes tratamentos, em tempos de estudo idênticos. A análise estatística foi realizada pelo programa de software de estatística JMP (JMP Version 7, SAS Institute, Inc., NC, USA). As diferenças foram consideradas significativas para uma probabilidade superior a 95% ($p < 0,05$).

Para a análise macroscópica da mucosa gástrica foi realizada uma análise de frequência.

2.3 - RESULTADOS

2.3.1 – Evolução clínica

Os animais mostraram, durante o período de estudo, na generalidade um aspecto saudável com actividade motora e respiração normal. Durante o período de estudo dois animais morreram, um do grupo V-A, ao 9º dia de trabalho experimental, um dia após ter sido administrado o etanol a 50%; e outro animal do grupo III-B, no 18º dia, dois dias após se ter iniciado a administração do peróxido de hidrogénio.

Durante o período de estudo alguns animais dos grupos II, III, IV e V apresentaram sintomas respiratórios, nomeadamente síbilos, sem uma padronização específica em todos os grupos referidos. A queda de pêlo, e o seu aspecto áspero também foi uma das características comuns a alguns animais, sem mais uma vez haver padronização específica em algum dos grupos.

Em quase todos os grupos houve um aumento de peso, comparando-o com o início e o fim do trabalho experimental. Estes resultados podem ser observados na tabela seguinte (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados dos pesos dos animais ao longo do trabalho experimental.

Grupo/ Nº Rato	Peso após 7 dias (gr)	Peso após 10 dias (gr)	Peso após 15 dias (gr)	Peso após 18 dias (gr)	Peso após 22 dias (gr) (Sacrifício)
I - 1	353,0	355,7	371,0	369,3	370,4
I - 2	335,0	334,5	358,0	356,3	355,8
I - 3	350,0	353,9	364,0	367,0	370,0
I - 4	348,0	350,4	360,0	365,5	376,3
I - 5	319,0	323,0	335,0	340,9	347,8
I - 6	358,0	361,0	373,0	389,2	395,4
I - 7	363,0	365,0	374,0	397,4	408,3
I - 8	371,0	366,0	375,0	374,9	372,4
I - 9	341,0	344,3	352,0	379,0	397,9
I - 10	376,0	384,7	392,0	412,4	419,3
II - A - 1	275,0	323,0	328,0	329,0	337,0
II - A - 2	321,0	292,0	298,0	308,0	307,0
II - A - 3	304,0	338,0	349,0	357,0	367,0
II - A - 4	279,0	318,0	330,0	344,0	357,2
II - A - 5	313,0	294,0	305,0	311,0	319,0
II - B - 1	287,0	319,0	333,0	342,0	337,0
II - B - 2	276,0	296,0	301,0	297,0	298,8
II - B - 3	268,0	305,0	297,0	272,0	273,4
II - B - 4	301,0	334,0	348,0	358,0	370,6
II - B - 5	297,0	317,0	320,0	327,0	335,0
III - 1	280,0	289,0	289,0	284,0	313,6
III - 2	300,0	294,0	307,0	312,0	324,0
III - 3	289,0	312,0	317,0	325,0	336,7
III - 4	310,0	304,0	296,0	308,0	352,7
III - 5	267,0	300,0	306,0	318,0	335,8
III - 6	285,0	290,0	301,0	308,0	330,4
III - 7	307,0	animal morreu			
III - 8	278,0	302,0	305,0	310,0	330,5
III - 9	276,0	256,0	267,0	281,0	297,8
III - 10	300,0	294,0	283,0	290,0	318,5
IV - 1	310,0	325,0	332,0	331,0	328,7
IV - 2	280,0	290,0	297,0	291,0	289,6
IV - 3	283,0	307,0	317,0	318,0	318,8
IV - 4	271,0	280,0	286,0	270,0	272,4
IV - 5	270,0	287,0	287,0	289,0	275,5
IV - 6	320,0	322,0	337,0	298,0	320,3
IV - 7	280,0	284,0	294,0	301,0	275,0
IV - 8	293,0	312,0	317,0	313,0	281,9
IV - 9	302,0	311,0	309,0	314,0	321,5
IV - 10	276,0	282,0	288,0	261,0	312,7
V - A - 1	303,0	307,1	318,0	323,4	336,5
V - A - 2	274,0	281,6	291,0	309,5	324,3
V - A - 3	285,0	285,6	293,0	317,8	332,7
V - A - 4	315,0	320,7	335,0	356,9	367,6
V - A - 5	300,0	303,2	318,0	329,2	353,2
V - B - 1	308,0	307,2	317,1	230,7	242,5
V - B - 2	299,0	299,1	306,0	304,9	312,6
V - B - 3	319,0	330,0	350,0	356,5	375,1
V - B - 4	302,0	312,4	329,0	animal morreu	
V - B - 5	260,0	270,7	280,0	299,8	310,0

A análise estatística dos dados referentes à tabela anterior está traduzida nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3 – Resultados estatísticos com os valores da média \pm SE dos pesos dos animais dos vários grupos experimentais ao longo do tempo do estudo e comparação de pares de médias.

Tempo de estudo	GRUPO	Média dos pesos (Least Sq Mean)	Erro padrão (Std Error)	Comparação de pares de média (Student's t) P<0,0001	
Dia 7	Gr I	351,40000	+/- 5,4613175	A	
	Gr II-A	298,40000	+/- 7,7234693	B	
	Gr II-B	285,80000	+/- 7,7234693	B	
	Gr III	287,22222	+/- 5,7567341	B	
	Gr IV	288,50000	+/- 5,4613175	B	
	Gr V-A	295,40000	+/- 7,7234693	B	
Dia 10	Gr V-B	296,50000	+/- 8,6351012	B	
	Gr I	353,85000	+/- 5,5457717	A	
	Gr II-A	313,00000	+/- 7,8429055	B	C
	Gr II-B	314,20000	+/- 7,8429055	B	
	Gr III	293,44444	+/- 5,8457566	C	
	Gr IV	300,00000	+/- 5,5457717	B	C
Dia 15	Gr V-A	299,64000	+/- 7,8429055	B	C
	Gr V-B	301,75000	+/- 8,7686349	B	C
	Gr I	365,40000	+/- 5,9732459	A	
	Gr II-A	322,00000	+/- 8,4474453	B	
	Gr II-B	319,80000	+/- 8,4474453	B	
	Gr III	296,77778	+/- 6,2963540	C	
Dia 18	Gr IV	306,40000	+/- 5,9732459	B	C
	Gr V-A	311,00000	+/- 8,4474453	B	C
	Gr V-B	313,27500	+/- 9,4445310	B	C
	Gr I	375,19000	+/- 7,940523	A	
	Gr II-A	329,80000	+/- 11,229596	B	
	Gr II-B	319,20000	+/- 11,229596	B	C
Dia 22	Gr III	304,00000	+/- 8,370047	B	C
	Gr IV	298,60000	+/- 7,940523	C	
	Gr V-A	327,37400	+/- 11,229596	B	
	Gr V-B	297,97500	+/- 12,555070	B	C
	Gr I	381,35600	+/- 8,491407	A	
	Gr II-A	337,44000	+/- 12,008663	B	
Dia 22	Gr II-B	322,96000	+/- 12,008663	B	C
	Gr III	326,66444	+/- 8,950729	B	
	Gr IV	299,62100	+/- 8,491407	C	
	Gr V-A	342,85000	+/- 12,008663	B	
	Gr V-B	310,05500	+/- 13,426093	B	C

Tabela 4 – Resultados estatísticos da análise de variância do peso dos animais dos vários grupos experimentais ao longo do trabalho experimental com contrastes.

GRUPO	MÉDIA (Least Sq Mean)
Grl,22 A	381,356
Grl,18 A	375,19
Grl,15 A B	365,4
Grl,10 B C	353,85
Grl,7 B C D	351,4
GrVA,22 B C D E	342,85
GrlIA,22 C D E F	337,44
GrlIA,18 D E F G	329,8
GrVA,18 E F G H	327,374
GrIII,22 E F G	326,66444
GrlIB,22 E F G H I	322,96
GrlIA,15 E F G H I J	322
GrlIB,15 E F G H I J K	319,8
GrlIB,18 E F G H I J K	319,2
GrlIB,10 F G H I J K L	314,2
GrVB,15 F G H I J K L M	313,275
GrlIA,10 F G H I J K L	313
GrVA,15 F G H I J K L M	311
GrVB,22 F G H I J K L M N	310,055
GrIV,15 H I J K L M N	306,4
GrIII,18 H I J K L M N	304
GrVB,10 G H I J K L M N	301,75
GrIV,10 I J K L M N	300
GrVA,10 I J K L M N	299,64
GrIV,22 J K L M N	299,621
GrIV,18 K L M N	298,6
GrlIA,7 I J K L M N	298,4
GrVB,18 I J K L M N	297,975
GrIII,15 K L M N	296,77778
GrVB,7 I J K L M N	296,5
GrVA,7 J K L M N	295,4
GrIII,10 L M N	293,44444
GrIV,7 M N	288,5
GrIII,7 N	287,22222
GrlIB,7 M N	285,8

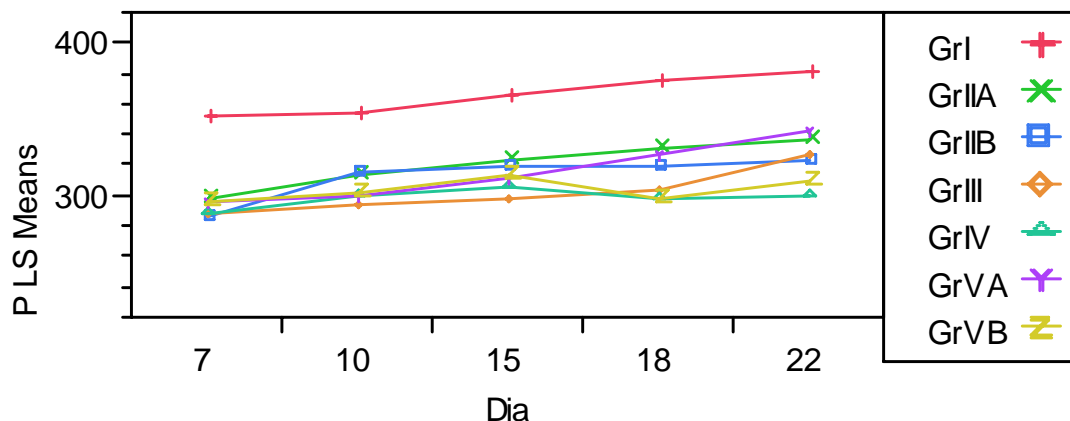


Gráfico 1 – Resultados da análise de variância do peso dos animais de todos os grupos experimentais ao longo do tempo do estudo.

O grupo I tem uma média dos aumentos de peso dos seus animais constante ao longo do tempo em que decorre o trabalho experimental. A evolução das médias dos aumentos de peso de todos os outros grupos serão comparados com o grupo controlo. Pela análise do gráfico 1 podemos observar que o grupo II não teve um aumento de peso constante, tendo o subgrupo B nos primeiros dias de 2ª semana de estudo aumentado mais rapidamente de peso do que o subgrupo A. No início da 3ª semana o subgrupo A descreveu uma curva semelhante ao grupo controlo, enquanto o subgrupo B manteve o mesmo peso, aumentando-o ligeiramente apenas no final da semana referida.

O grupo III teve uma evolução do aumento de peso muito ligeira no decorrer de todo o estudo, diferente da evolução do grupo controlo, e apenas um aumento significativo nos últimos três dias do estudo.

No grupo IV a evolução do peso foi moderada nas duas primeiras semanas de estudo, invertendo a curva de aumento na 3ª semana de estudo, havendo uma perda de peso dos animais nesta semana.

No grupo V, o subgrupo V-A teve uma evolução de peso constante semelhante à curva do grupo controlo. No entanto, o grupo V-B teve uma evolução de peso semelhante ao

grupo IV, havendo sinais de recuperação ligeira de peso nos três últimos dias de estudo.

2.3.2 – Observação macroscópica no final do estudo

Durante a necrópsia, embora tenham sido recolhidos, analisados e pesados os diversos órgãos (Apêndice 10, 11, 12, 13 e 14), houve alguns que requereram especial atenção, além, evidentemente, do estômago. Esta análise mais cuidada sobre estes órgãos, nomeadamente o pulmão e o baço, foi realizada com a finalidade de averiguar as probabilidades de toxicidade sistémica.

A observação macroscópica do pulmão dos animais dos diversos grupos revelou um animal do grupo I com uma mancha escura hemorrágica na porção inferior do pulmão direito, compatível com o registo clínico de sintomas respiratórios que o animal apresentava. Os outros grupos, grupo II, III, IV e V apresentaram, na generalidade em todos os animais, pulmão congestionado, hiperémico, friável, com grandes zonas escuras com pigmentações avermelhadas com formação de placas hemorrágicas e zonas fibrosadas como se demonstra na Figura 11.

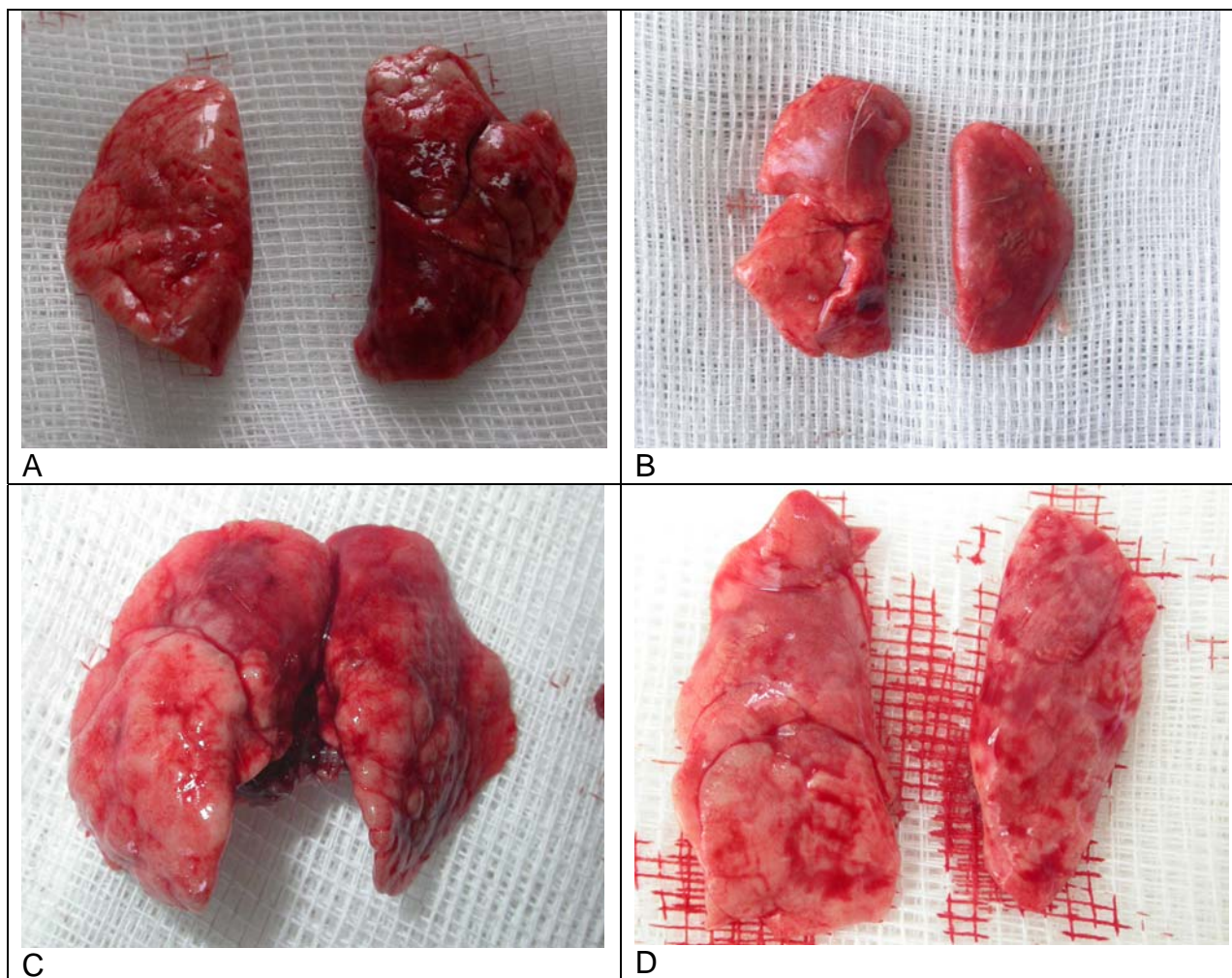


Figura 11 – Aspecto macroscópico de pulmão. (A – Grupo II. Zonas hemorrágicas extensas com placas e edema generalizado; B – Grupo III. Edema e placas fibrosadas; C – Grupo IV. Zona hemorrágica extensa com edema; D – Grupo V. Hiperémia generalizada com edema).

A observação macroscópica do baço não revelava qualquer característica assinalável (Figura 12), no entanto foram pesados e medidos nas três dimensões (comprimento, largura e profundidade).



Figura 12 – Colheita de baço para efectuar pesagem e medições. Baço com aspecto macroscópico normal.

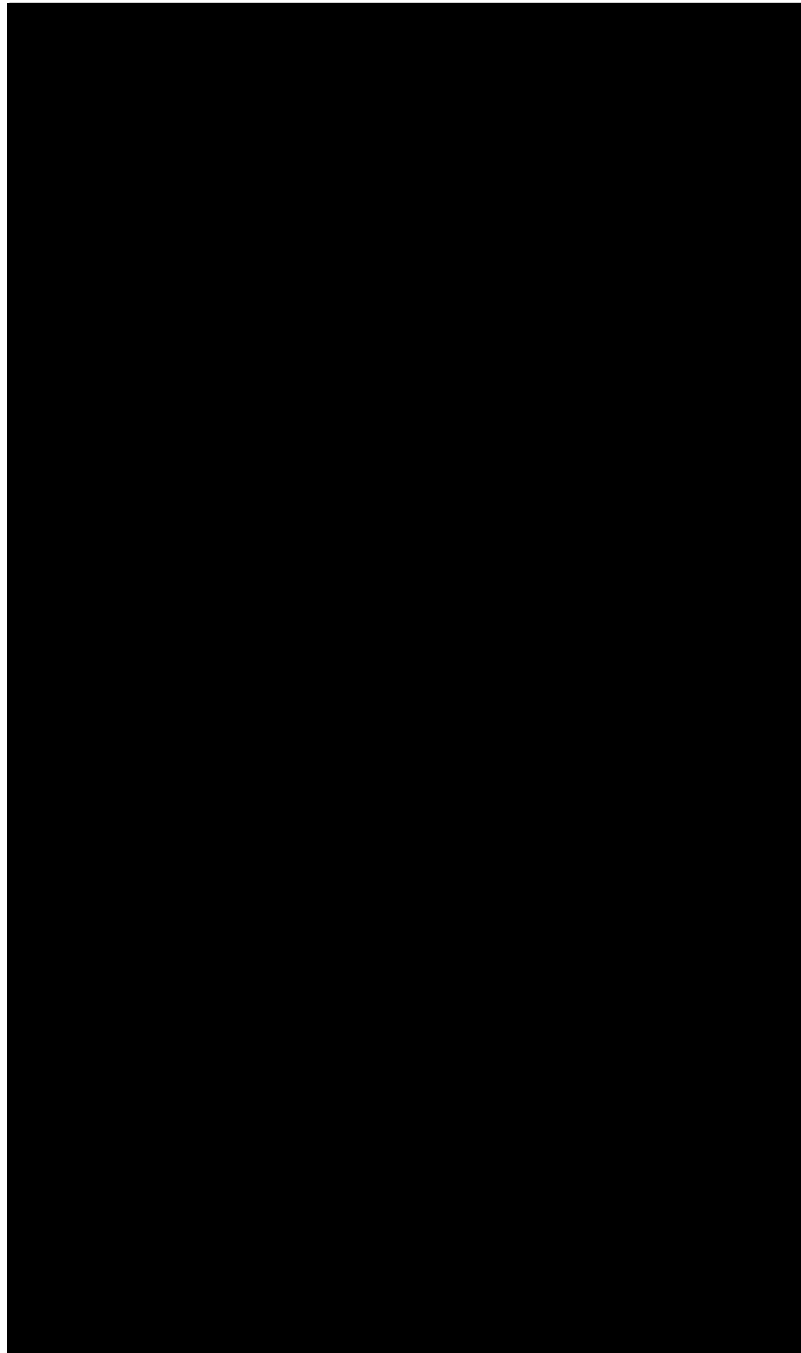
Os resultados do peso do baço e as suas dimensões podem ser analisados na tabela seguinte (Tabela 5).

Tabela 5 – Resultados das dimensões (comprimento, largura e profundidade) do baço e peso do mesmo.

Nº.	Nº RATO	PESO DO BAÇO (gr)	DIMENSÕES DO BAÇO (CxLxP) (mm)
1	I - 1	0,74	43x8x5
2	I - 2	0,85	45x9x7
3	I - 3	0,72	41x7x4
4	I - 4	0,65	41x8x4
5	I - 5	0,72	43x9x5
6	I - 6	0,95	43x9x4
7	I - 7	0,84	39x9x5
8	I - 8	0,77	40x8x4
9	I - 9	0,73	37x7x5
10	I - 10	1,15	41x9x4,5
11	II - A - 1	0,59	38x5x4
12	II - A - 2	0,68	37x3x6
13	II - A - 3	0,74	37x3x4
14	II - A - 4	0,74	38x9x3
15	II - A - 5	perca de dados	
16	II - B - 1	0,59	40x6x5
17	II - B - 2	0,7	45x7x6
18	II - B - 3	0,64	40x6x4
19	II - B - 4	0,88	46x8x5
20	II - B - 5	0,56	42x6x4
21	III - 1	0,67	40x5x8
22	III - 2	0,75	45x6x9
23	III - 3	0,69	42x5x10
24	III - 4	0,77	45x4x8
25	III - 5	1,12	45x7x10
26	III - 6	0,76	40x4x9
27	III - 7	0,65	42x7x8
28	III - 8	0,76	45x5x10
29	III - 9	0,69	43x6x10
30	IV - 1	0,52	35x7x9
31	IV - 2	0,54	34x6x9
32	IV - 3	0,8	37x7x9
33	IV - 4	0,45	34x5x6
34	IV - 5	0,58	37x4x9
35	IV - 6	0,75	38x7x12
36	IV - 7	0,47	34x4x9
37	IV - 8	0,74	39x4x10
38	IV - 9	0,61	35x5x9
39	IV - 10	0,59	36x5x8
40	V - A - 1	0,71	41x8x5
41	V - A - 2	0,55	35x8x5
42	V - A - 3	0,62	37x9x5
43	V - A - 4	0,64	39,2x8,9x4,85
44	V - A - 5	0,74	42x8x3
45	V - B - 1	0,78	42x9x5
46	V - B - 2	0,61	35x8x3
47	V - B - 3	0,75	39x7,2x3,1
48	V - B - 4	0,75	45x9x5

Os resultados do peso do baço foram comparados com o peso do animal respectivo nos diversos grupos. Estes resultados podem ser analisados na tabela seguinte (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados da comparação dos pesos animal e baço.



A Tabela 7 demonstra a análise estatística para a percentagem de variação do peso do animal, do peso do baço e da relação entre estes dois parâmetros, para cada um dos grupos e subgrupos. Através da tabela pode observar-se da existência de diferenças com significado estatístico ($p < 0,05$), assinalados com letras diferentes, entre os grupos experimentais em estudo.

Tabela 7 – Resultados da análise estatística para a comparação dos pesos de animal e do baço.

Parâmetro	PESO DO ANIMAL (gr)	S	PESO DO BAÇO (gr)	S2	VAR PESO (%)	S3	VAR BAÇO (%)	S4	BAÇO POR PESO (%)	S5
Grupo de Controlo	381,36	a	0,81	a	-0,33	a	-2,52	a	0,21	a
Grupo II-A	337,44	b	0,69	abc	-13,52	bc	-19,12	abc	0,2	ab
Grupo II-B	322,96	bc	0,67	bc	-19,4	bcd	-23,55	bc	0,21	ab
Grupo III	326,66	b	0,76	ab	-16,99	bc	-9,04	ab	0,23	a
Grupo IV	299,62	c	0,61	c	-27,94	d	-39	c	0,2	ab
Grupo V-A	342,85	b	0,65	bc	-11,46	ab	-25,92	bc	0,19	b
Grupo V-B	310,06	bc	0,72	abc	-25,98	cd	-13,44	ab	0,24	a
Total Geral	333,46		0,71		-15,86		-18,6		0,21	

A variação do peso do baço entre os diferentes grupos e subgrupos tem, entre alguns, diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Entre o grupo controlo e os grupos manipulados no estudo há algumas diferenças significativas, nomeadamente com o grupo V-A, II-B e IV. Entre os grupos manipulados existem diferenças estatisticamente significativas apenas entre o grupo V-B e III com o grupo IV. Nos grupos que apresentavam subgrupos, o grupo II e V, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre cada um dos seus subgrupos, A e B.

Os grupos nos quais foi apenas administrada um tipo de substância, como nos grupos II e V, cada um por si e na sua totalidade não apresentaram diferenças estatisticamente significativas com o grupo controlo. Dos grupos manipulados com dois tipos diferentes de substâncias, o produto de branqueamento e o etanol a 50%, como o grupo III e IV, apenas o grupo IV apresenta diferenças altamente significativas relativamente ao grupo controlo, especialmente o grupo IV. As diferenças existentes entre os grupos

manipulados e o grupo controlo, são todas negativas, isto é o peso do baço é sempre mais elevado no grupo controlo quando comparado com os restantes grupos.

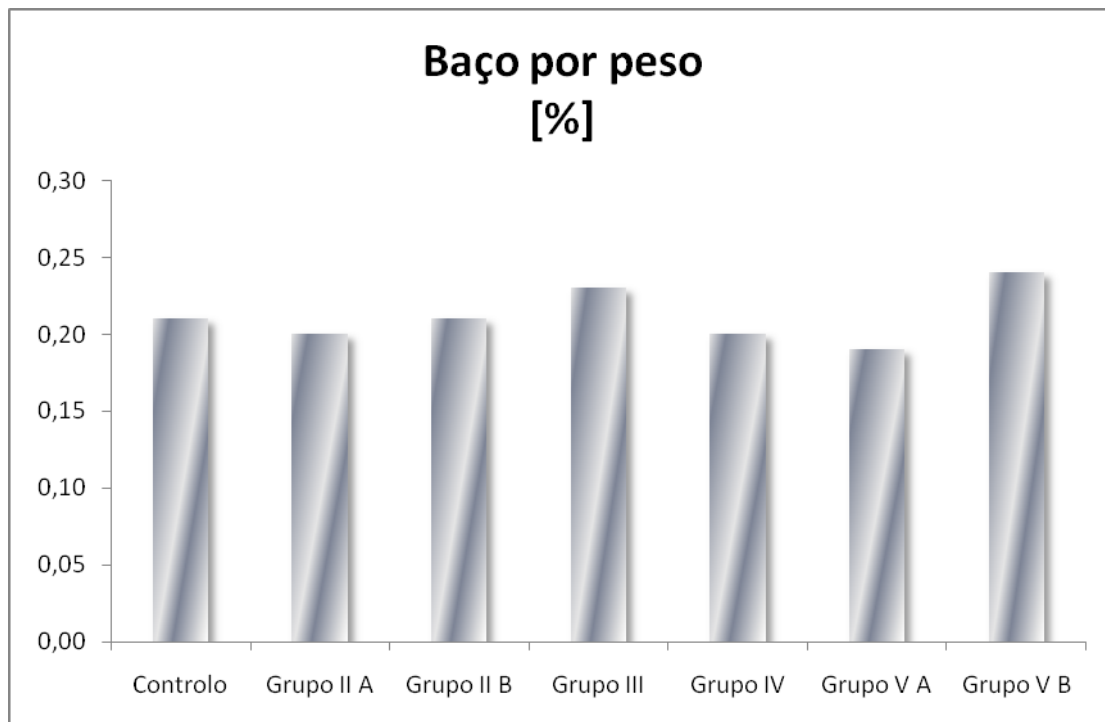


Gráfico 2 – Resultados em percentagem da comparação da relação dos pesos do animal e do baço.

O Gráfico 2 compara as variações da relação peso do baço e peso do animal, com base nos resultados da Tabela 7. Apenas o grupo V-A apresenta diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controlo. No entanto, o grupo V-A apresenta também diferenças estatisticamente significativas em relação a dois grupos manipulados, como sejam os grupos V-B e III.

Também foi efectuada uma análise mais cuidada do esófago dos animais dos diferentes grupos, mas não se registou qualquer alteração em nenhum dos grupos, como demonstra a Figura 13.



Figura 13 – Observação macroscópica do esófago. Aspecto da mucosa esofágica depois do órgão aberto e após ter sido efectuada a limpeza. Sem alterações (não existem zonas de inflamação, hemorrágicas ou úlceras).

A observação macroscópica mais detalhada ocorreu no estômago, como já referido. Após a colheita do órgão, procedeu-se à sua abertura pela grande curvatura desde o cárdia ao piloro. De seguida efectuou-se a lavagem com remoção dos resíduos presentes na mucosa gástrica com uma solução à base de cloreto de sódio.

Após a completa limpeza da mucosa, observaram-se as diversas lesões nas várias áreas da mucosa gástrica como se observa nas Figuras 14 a 19 classificando-as de acordo com a metodologia de análise macroscópica referida acima, para cada animal de cada grupo.

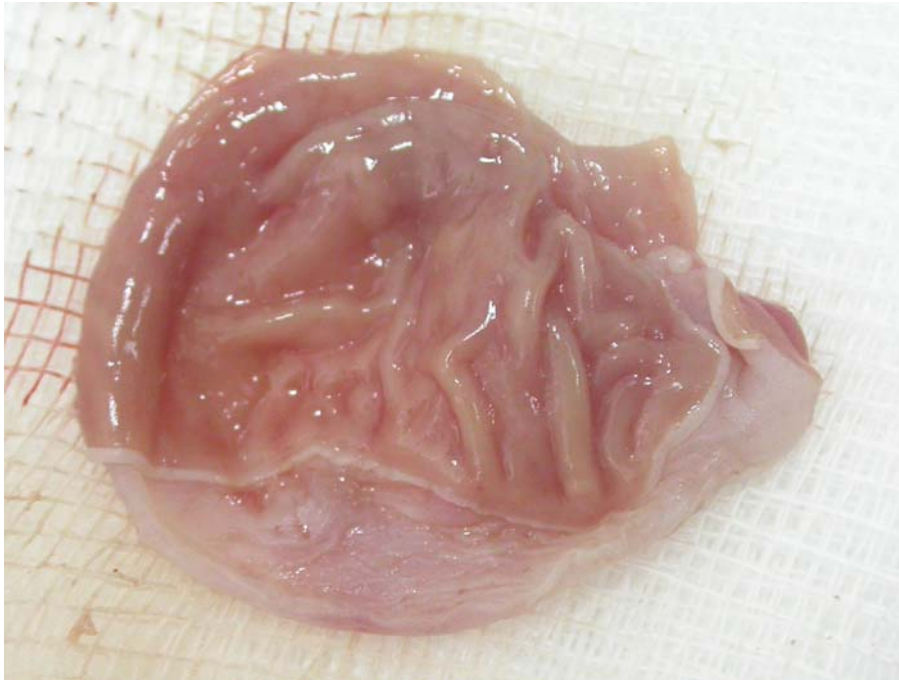


Figura 14 – Aspecto da mucosa gástrica de um animal do grupo I. Aspecto normal da mucosa em toda a sua extensão.

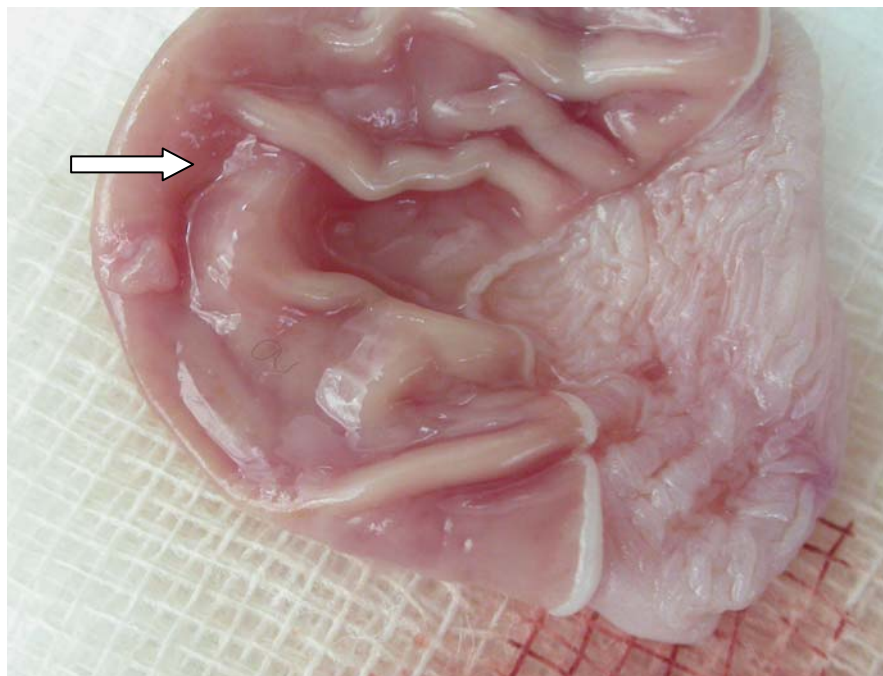
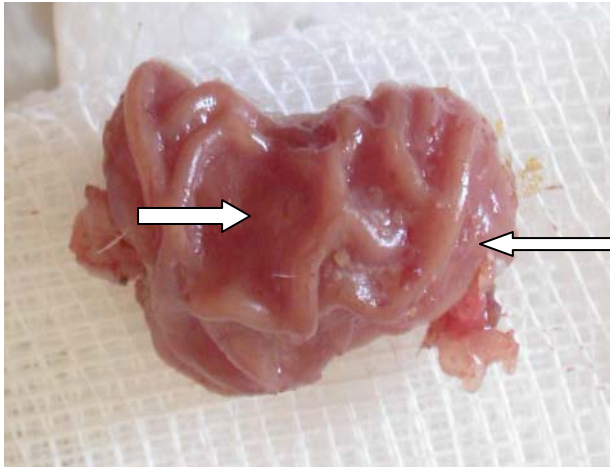
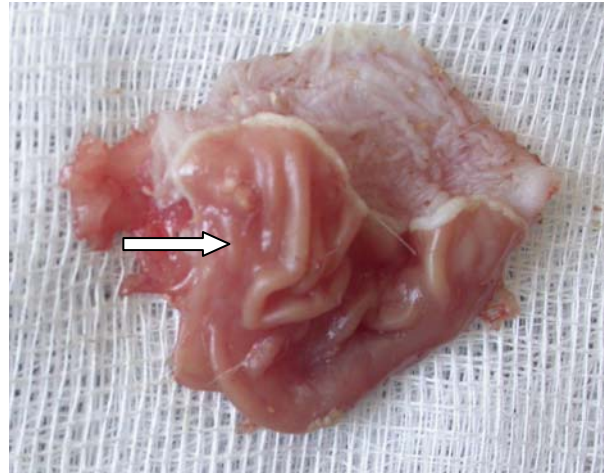


Figura 15 – Aspecto da mucosa gástrica de um animal do grupo II. Zonas com ligeiros sinais de inflamação.

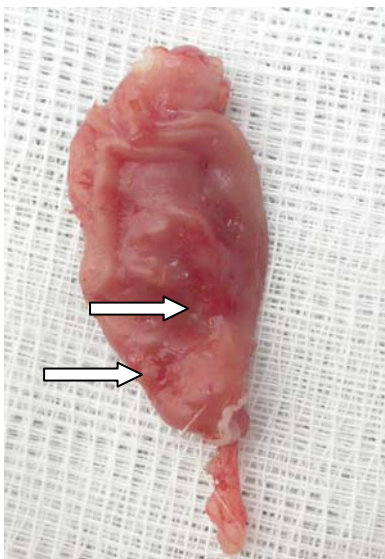


A



B

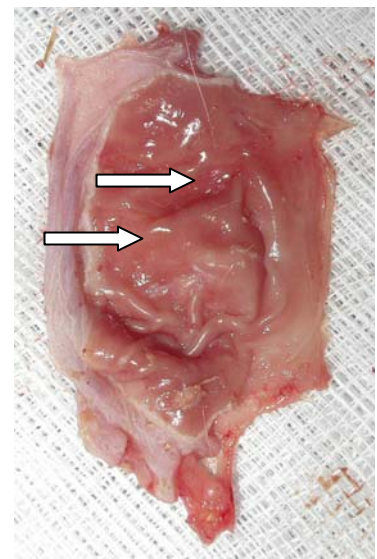
Figura 16 - Aspecto da mucosa gástrica de dois animais do grupo III. (A e B - Zonas extensas com sinais macroscópicos correspondentes a inflamação e simultaneamente apagamento das pregas da mucosa).



A

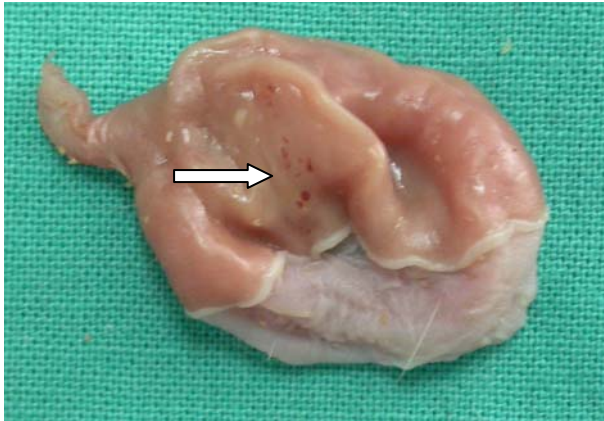


B

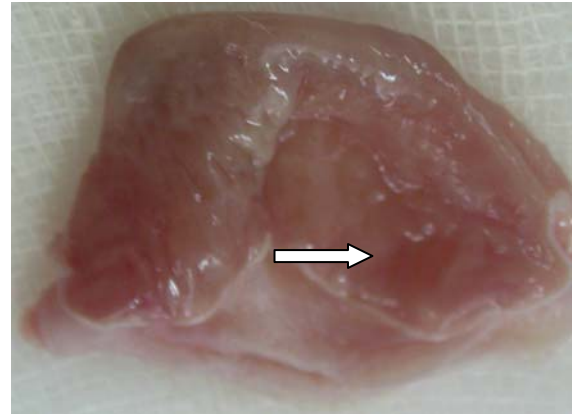


C

Figura 17 - Aspecto da mucosa gástrica de três animais do grupo IV. (A - Zonas extensas com apagamento das pregas da mucosa e com sinais de hemorragia e úlceras; B – Zona com sinais de hemorragia e em parte da mucosa há um apagamento das pregas da mucosa; C – zonas com sinais de inflamação e apagamento das pregas da mucosa).



A



B

Figura 18 - Aspecto da mucosa gástrica de dois animais do grupo V, subgrupo A. (A – Zona generalizada de apagamento das pregas da mucosa e zonas restritas com sinais de hemorragia; B – Zona com sinais de inflamação e ligeiro e generalizado apagamento das pregas da mucosa).

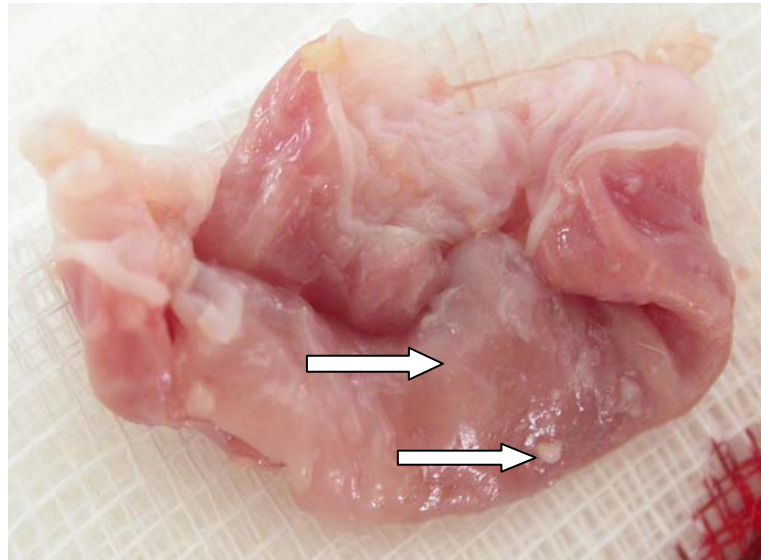


Figura 19 - Aspecto da mucosa gástrica de um animal do grupo V, subgrupo B. Apagamento generalizado das pregas da mucosa e descoloração da mucosa gástrica.

Desta análise macroscópica da mucosa gástrica teve origem a tabela seguinte (Tabela 8).

Tabela 8 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica.

Nº.	Nº Rato	Aspecto normal em toda a sua extensão [0]	Áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação [0;1;2;3;4;5]	Apagamento das pregas da mucosa [0;1;2;3;4;5]	Áreas macroscopicamente correspondentes a hemorragia [0;1;2;3;4;5]	Áreas macroscopicamente correspondentes a necrose/úlceras [0;1;2;3]	Perfuração
1	I - 1	0	0	1	0	0	0
2	I - 2	0	0	0	0	0	0
3	I - 3	0	0	0	0	0	0
4	I - 4	0	0	0	0	0	0
5	I - 5	0	0	0	0	0	0
6	I - 6	0	0	0	0	0	0
7	I - 7	0	0	0	0	0	0
8	I - 8	0	0	0	0	0	0
9	I - 9	0	0	0	0	0	0
10	I - 10	0	0	0	0	0	0
11	II - A - 1		3	2	3	0	0
12	II - A - 2		4	1	2	0	0
13	II - A - 3		2	0	2	1	0
14	II - A - 4		1	3	4	1	0
15	II - A - 5		3	0	2	0	0
16	II - B - 1		2	0	3	0	0
17	II - B - 2		2	0	2	0	0
18	II - B - 3		3	0	3	0	0
19	II - B - 4		2	0	0	1	0
20	II - B - 5		1	0	0	0	0
21	III - 1		3	4	3	0	0
22	III - 2		3	2	4	0	0
23	III - 3		3	4	3	0	0
24	III - 4		3	0	3	1	0
25	III - 5		3	0	3	0	0
26	III - 6		2	0	2	1	0
27	III - 7		2	0	3	0	0
28	III - 8		2	0	2	0	0
29	III - 9		1	2	3	1	0
30	IV - 1		2	0	3	1	0
31	IV - 2		2	0	2	0	0
32	IV - 3		2	0	3	0	0
33	IV - 4		3	4	1	0	0
34	IV - 5		4	3	4	0	0
35	IV - 6		3	2	4	0	0
36	IV - 7		4	3	2	0	0
37	IV - 8		2	4	4	0	0
38	IV - 9		3	2	3	0	0
39	IV - 10		4	4	3	0	0
40	V - A - 1	0	0	0	0	0	0
41	V - A - 2		4	4	4	0	0
42	V - A - 3		2	4	5	0	0
43	V - A - 4		1	3	3	0	0
44	V - A - 5		2	0	3	0	0
45	V - B - 1		3	3	2	0	0
46	V - B - 2	0	0	0	0	0	0
47	V - B - 3	0	0	0	0	0	0
48	V - B - 3		2	0	2	0	0

A análise estatística foi realizada com base numa análise de frequência, dado que, como se pode observar na tabela anterior, as variáveis são discretas e não contínuas.

O primeiro parâmetro analisado é referente ao aspecto normal da mucosa que apenas se verificou no grupo controlo e em um animal do grupo V-A e dois animais do grupo V-B, como se pode observar no Gráfico 3.

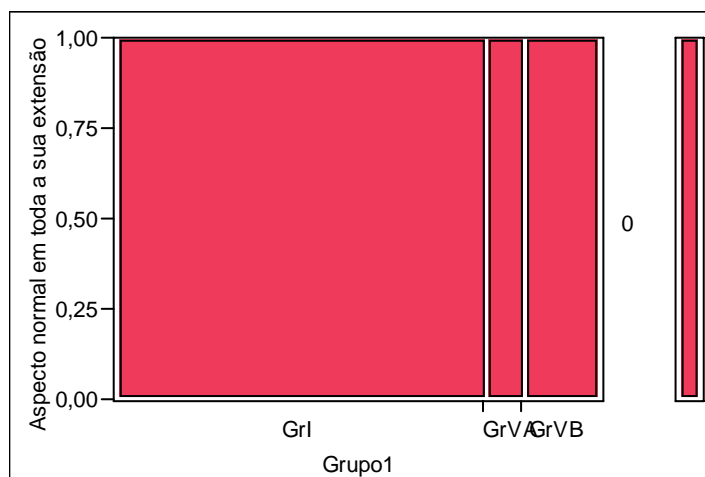


Gráfico 3 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro - Aspecto normal em toda a sua extensão

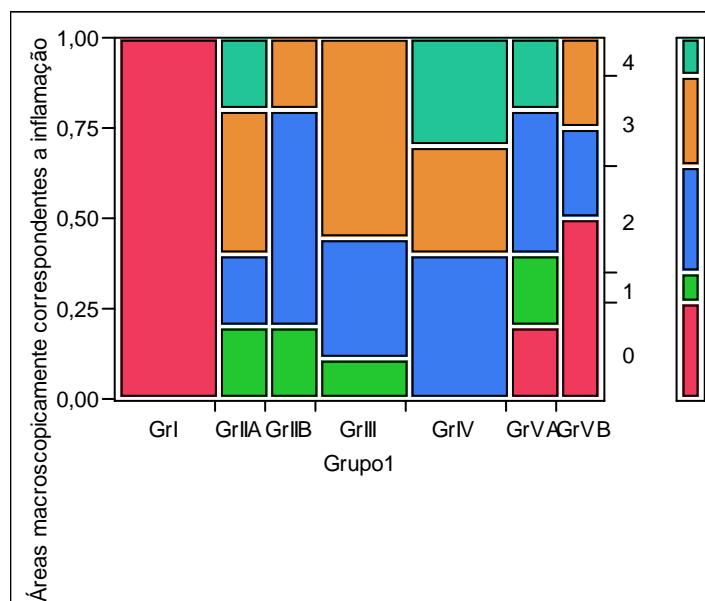


Gráfico 4 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação.

Pela análise do Gráfico 4 podemos observar que todos os grupos manipulados apresentam áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação, sendo este parâmetro mais acentuado nos grupos II-A, IV e V-A. No entanto, no grupo III, embora não apresente os valores mais elevados de frequência de áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação, mais de 50% dos animais deste grupo apresenta valores acentuados de frequência deste parâmetro. No grupo IV ocorrem ambas as situações, tem os valores mais elevados de frequência e maior percentagem de animais com inflamação gástrica. O grupo controlo não apresenta nenhum animal com áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação.

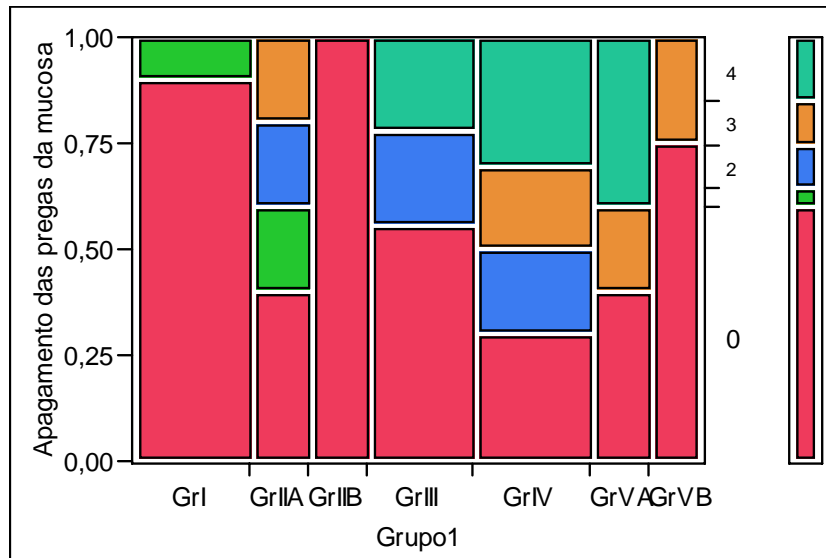


Gráfico 5 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Apagamento das pregas da mucosa.

O parâmetro apagamento das pregas da mucosa não apresenta um padrão generalizado, pois uma grande percentagem dos animais dos diversos grupos manipulados apresenta uma frequência deste parâmetro de zero. Apenas no grupo II-A, IV e V-A, esta característica tem maior ocorrência. No entanto, nos grupos III, IV e V-A este parâmetro tem uma frequência maior. O grupo controlo apresenta, também, alguns animais com algumas zonas de apagamento das pregas da mucosa. Estes resultados podem ser observados no Gráfico 5.

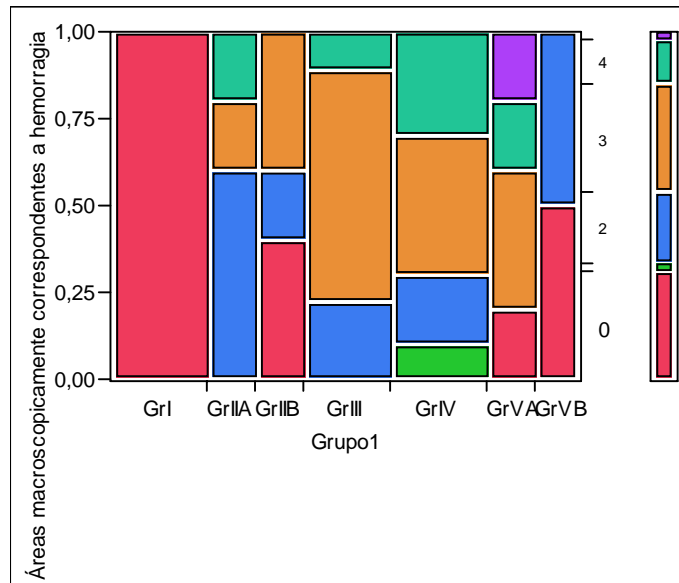


Gráfico 6 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Áreas macroscopicamente correspondentes a hemorragia.

Todos os grupos manipulados apresentam áreas macroscopicamente correspondentes a hemorragia. Os grupos III, IV e V-A apresentam um maior número de animais com este tipo de alterações, sendo a frequência mais elevada no grupo V-A. O grupo II apresenta mais de 50% dos animais com uma baixa frequência deste parâmetro, sendo esta ainda menos acentuada no subgrupo B. O grupo controlo não apresenta animais com este tipo de lesão. Estes resultados podem ser observados no Gráfico 6.

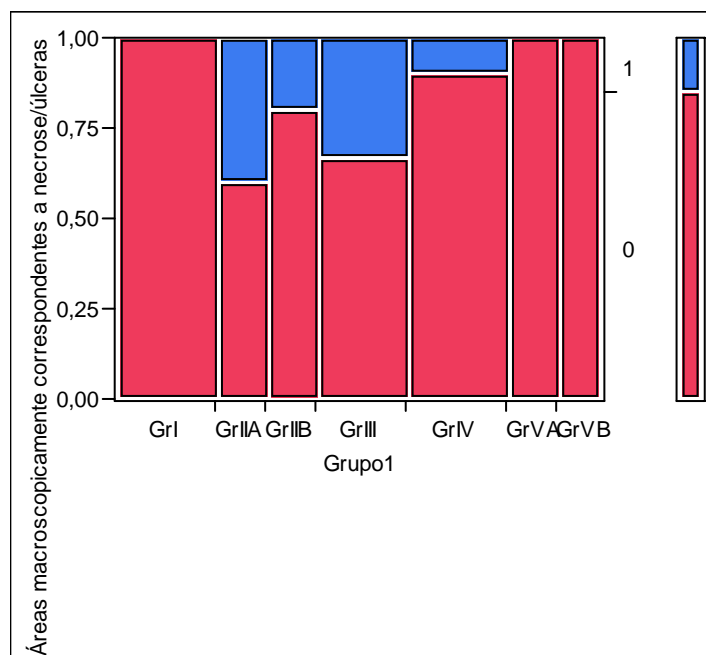


Gráfico 7 – Resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica relativamente ao parâmetro – Áreas macroscopicamente correspondentes a necrose/úlceras.

A frequência de áreas macroscopicamente correspondentes a necrose ou úlceras é baixa em todos os grupos manipulados. Este parâmetro é, apenas, evidente com baixa frequência nos grupos II, subgrupo A e B, e nos grupos III e IV. Dentro destes grupos, os grupos com maior número de animais a apresentar este tipo de lesão são os II-A e III. No grupo IV existe um número muito baixo de animais com este parâmetro positivo. O grupo I, controlo e grupo V não apresentam qualquer animal com este tipo de lesão. Estes resultados podem ser observados no Gráfico 7.

2.3.3 – Observação em Microscopia de Luz

As imagens histológicas observadas demonstraram que a metodologia seguida na preparação do material recolhido para a observação histológica foi adequada. No entanto, em algumas lâminas foram detectados pequenos artefactos, que, no essencial não colocaram em causa a correcta observação e avaliação das áreas da mucosa gástrica em estudo.

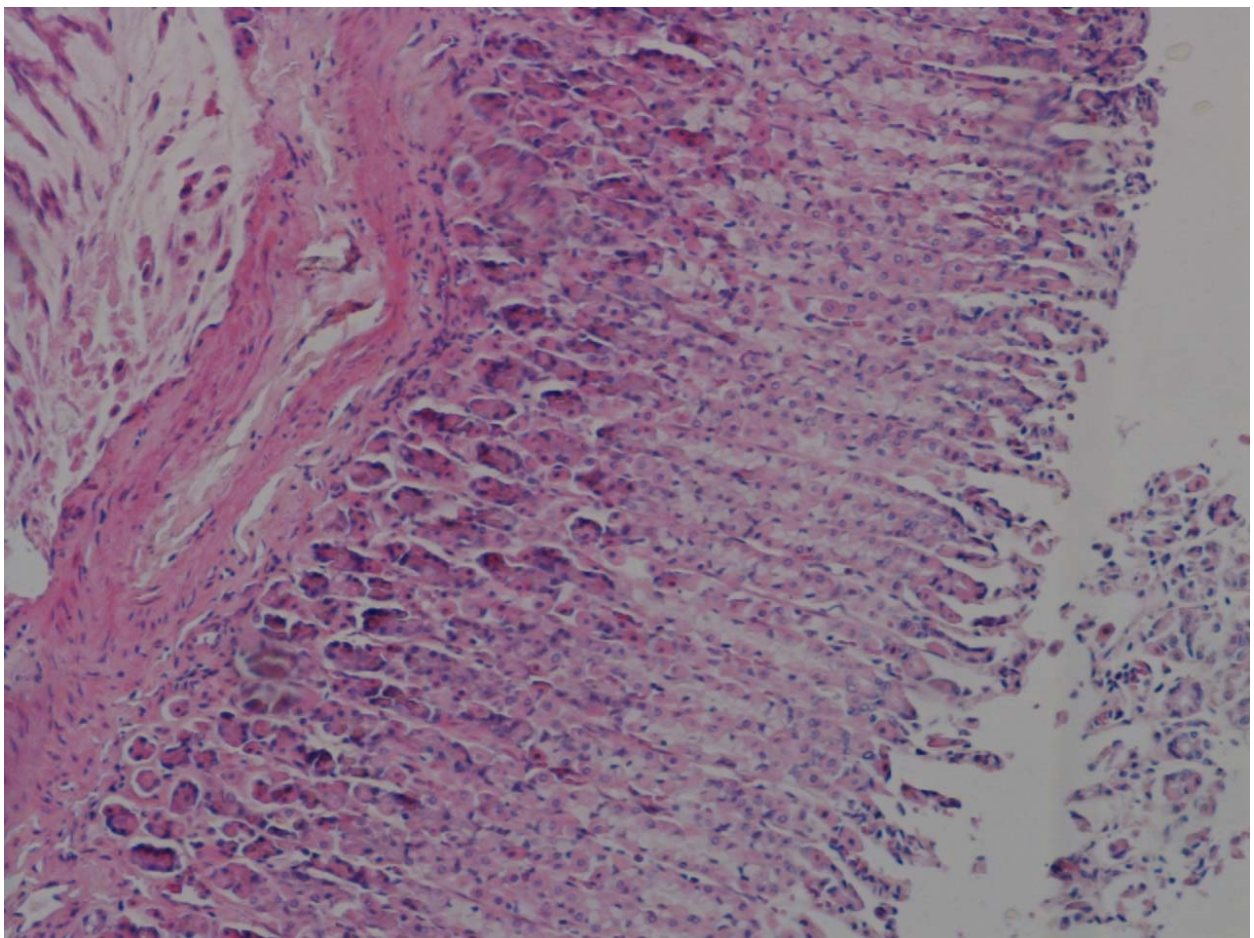


Figura 20 - Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do Grupo II subgrupo A. Podem ser observadas alterações da mucosa com descamação e focos de necrose.

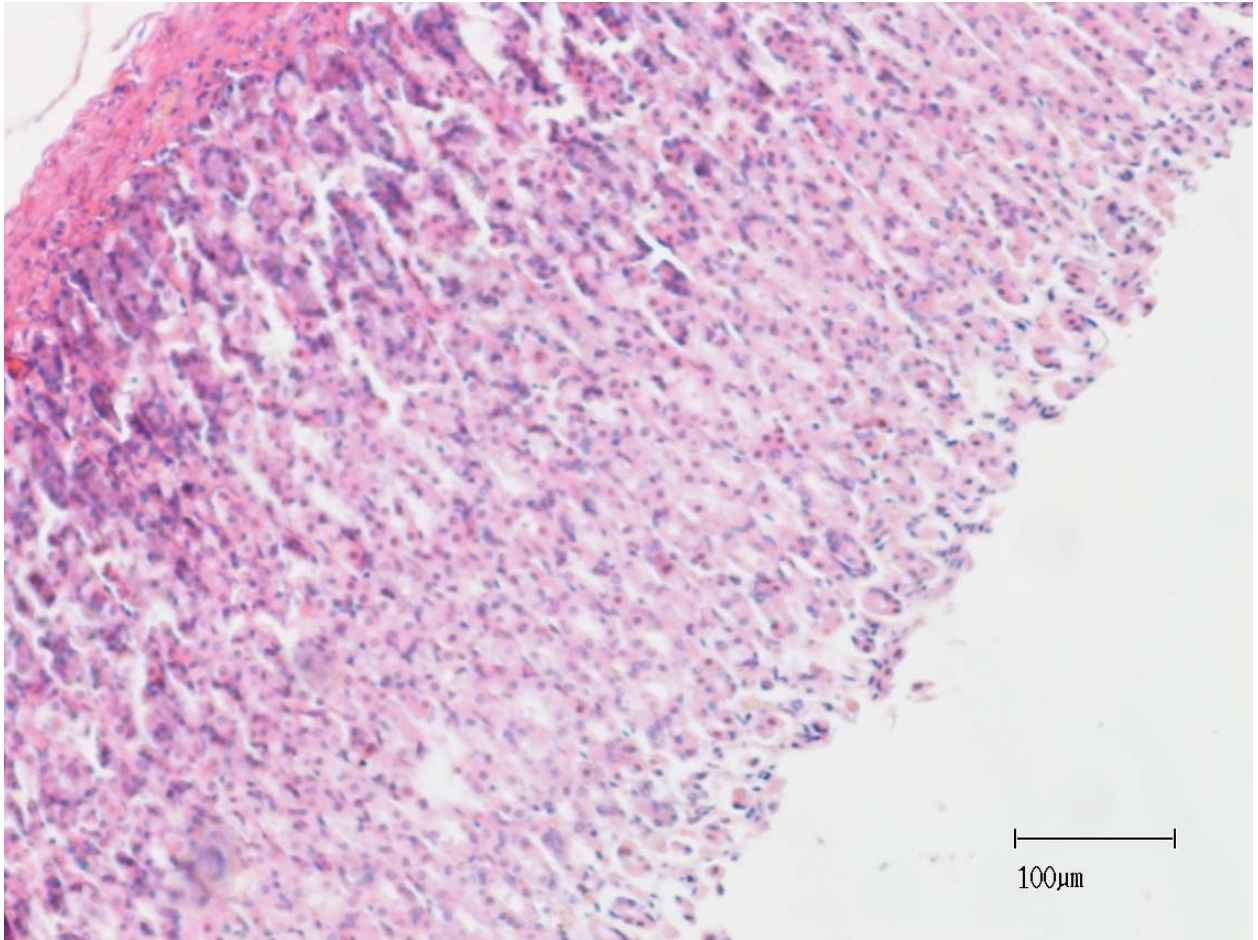


Figura 21 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do Grupo II subgrupo B. Podem ser observadas áreas de necrose.

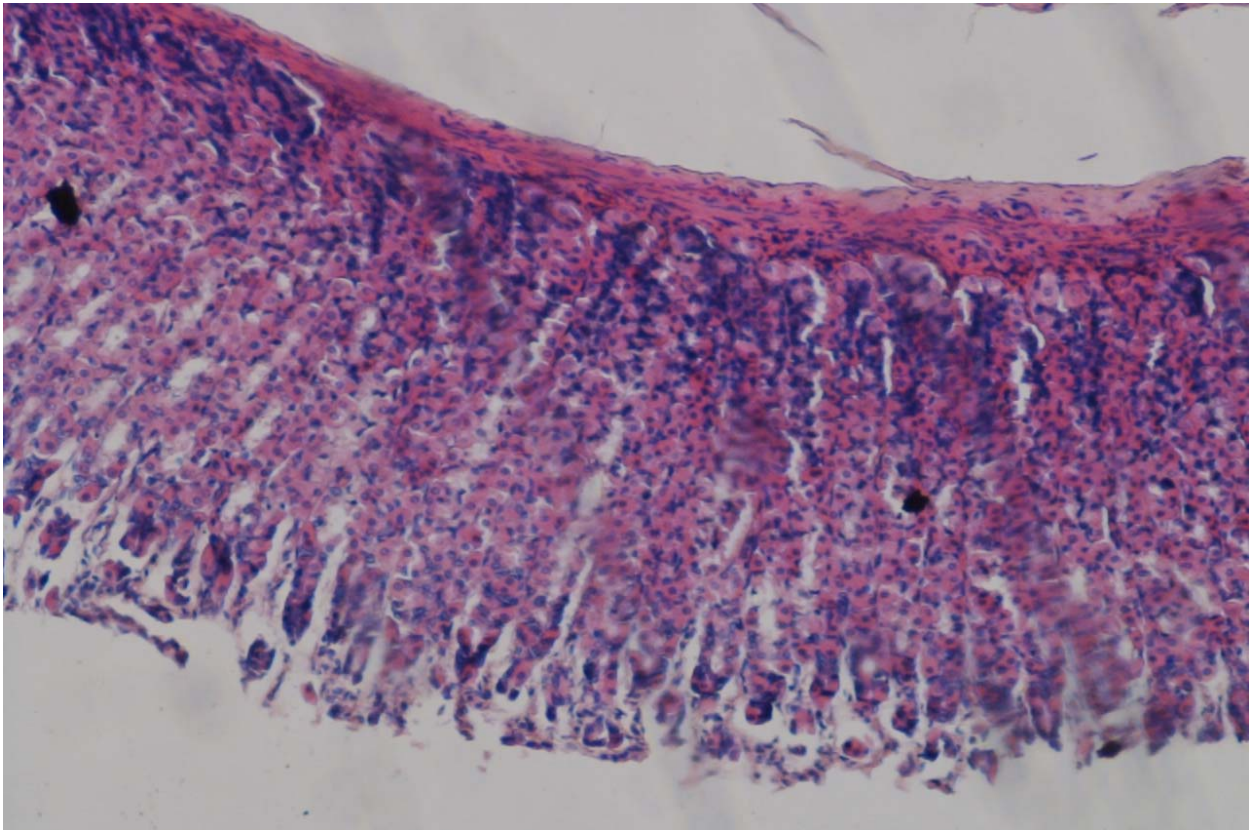


Figura 22 - Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do Grupo III. Pode ser observada uma perda da camada superficial do epitélio da mucosa.

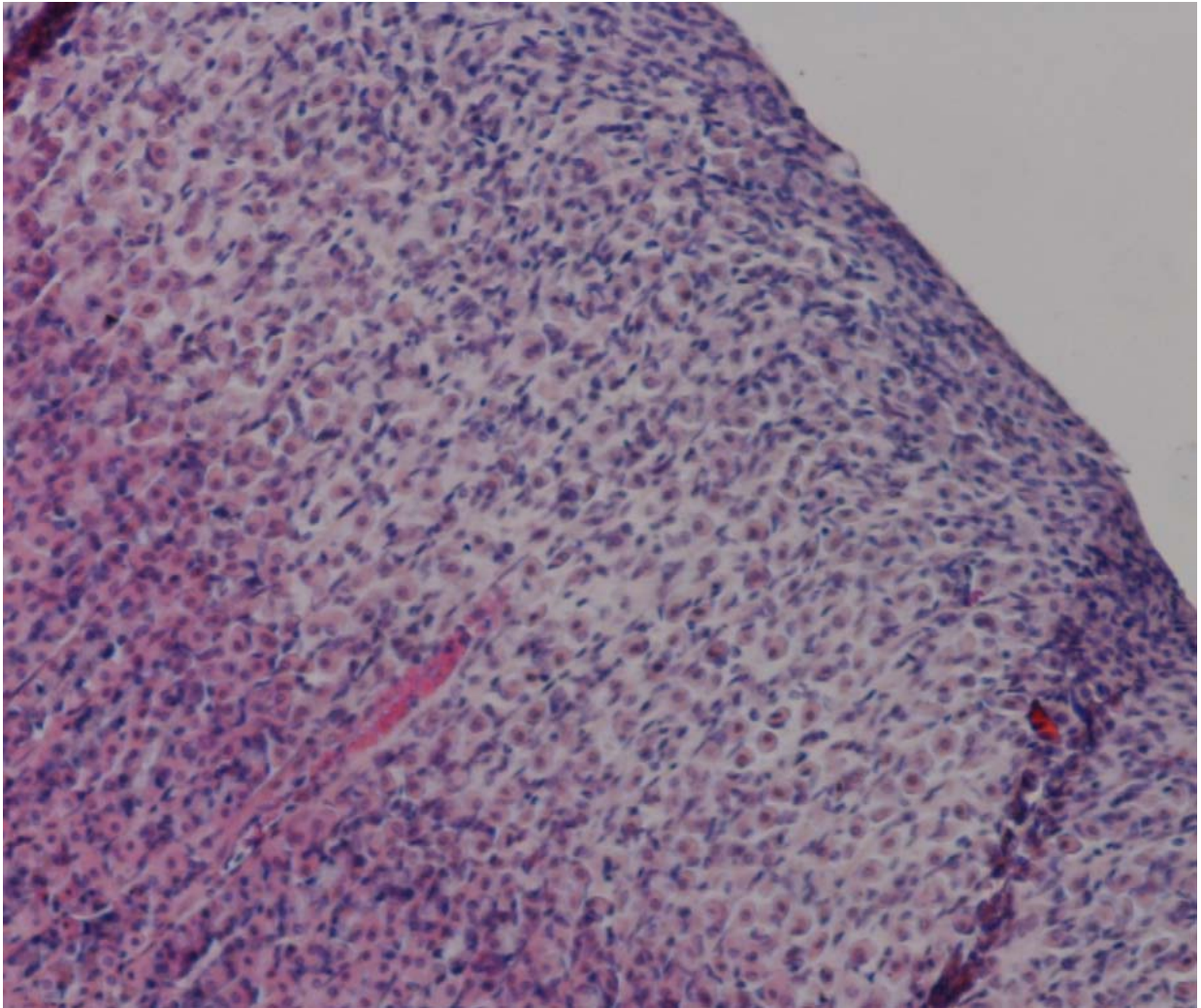


Figura 23 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do Grupo IV. Pode ser observado a presença de infiltrado inflamatório e edema.

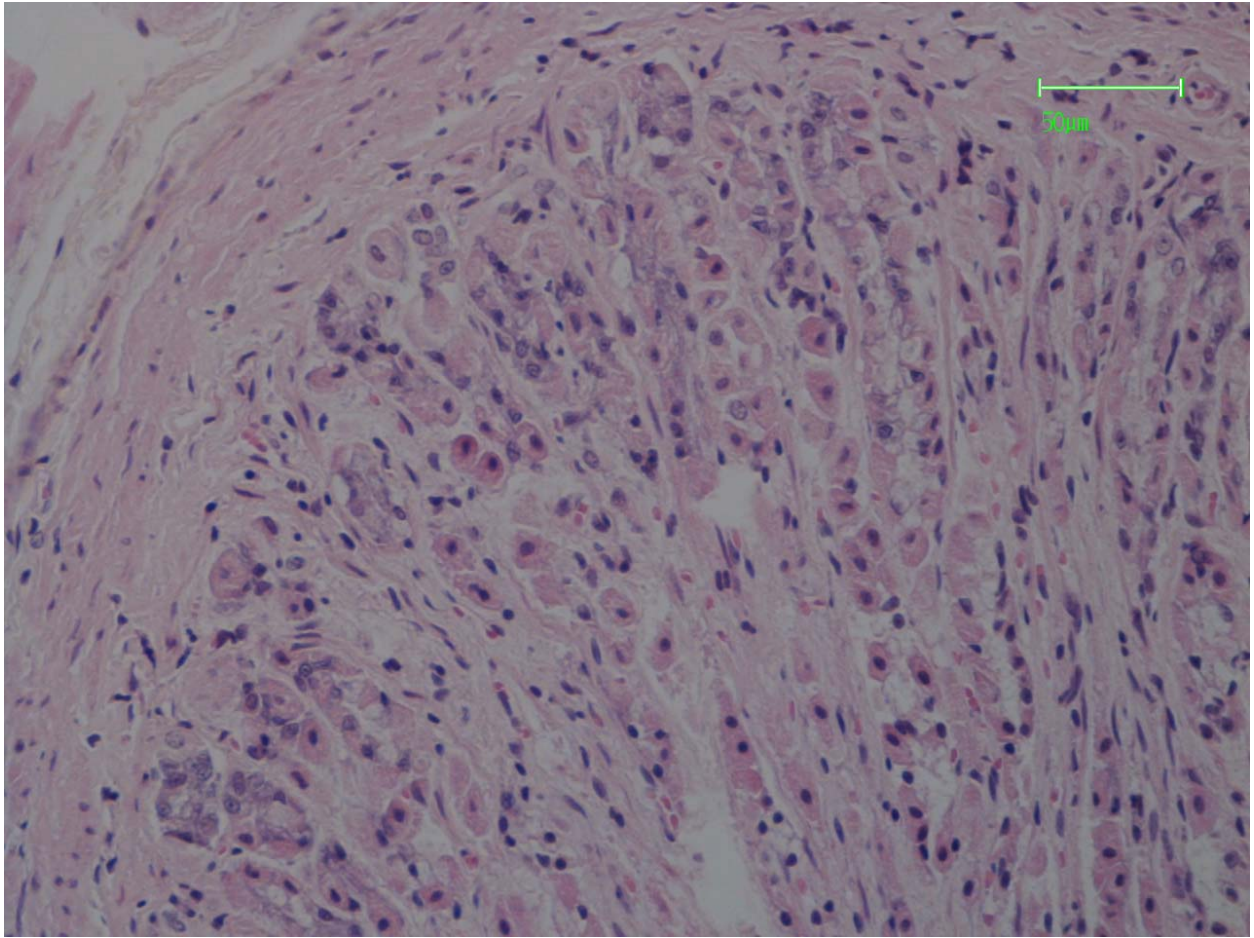


Figura 24 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do Grupo V subgrupo A. Podem ser observadas alterações inflamatórias ligeiras.

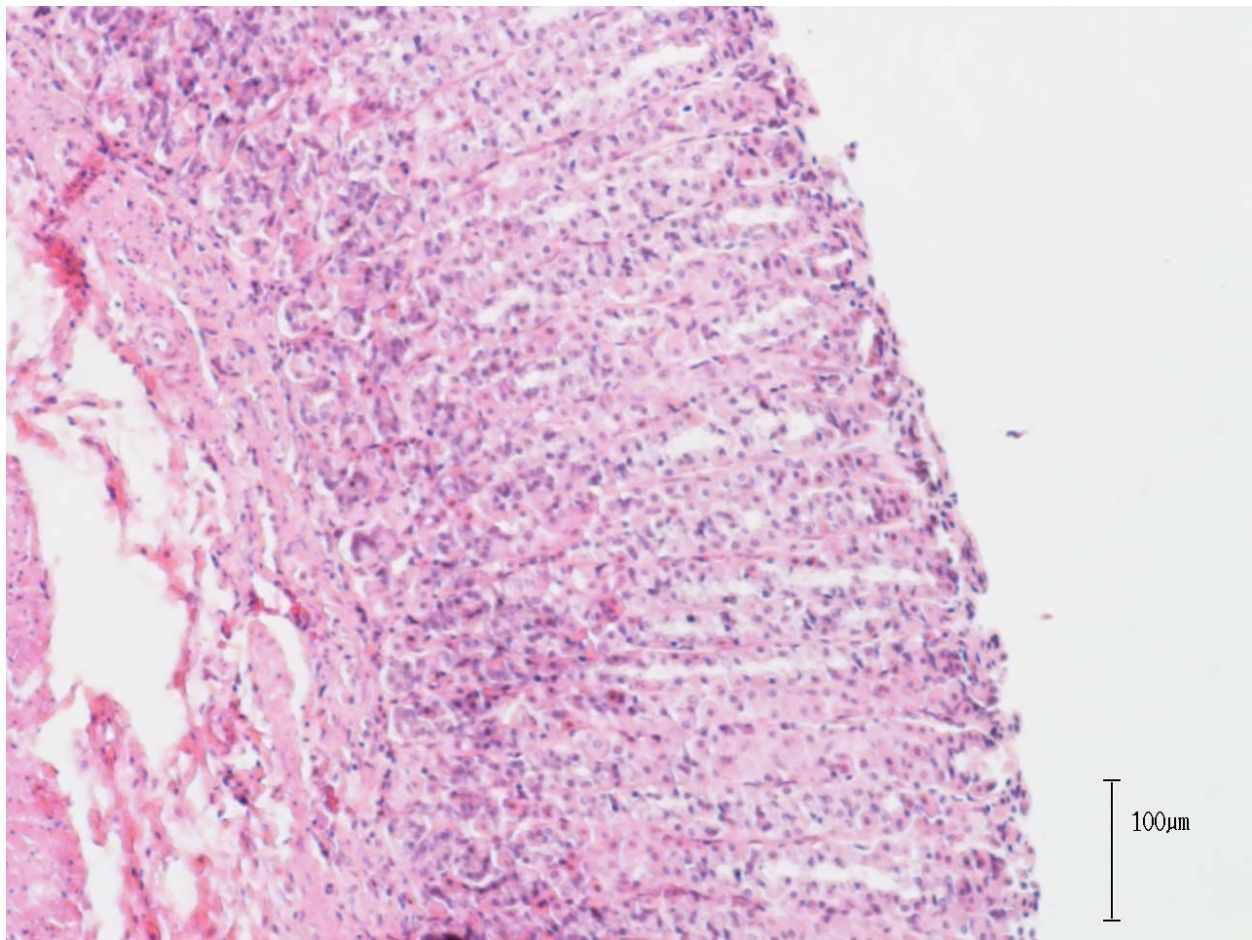


Figura 25 – Observação histológica da mucosa gástrica de um animal do Grupo V subgrupo B. Pode ser observada uma perda da camada epitelial mais superficial da mucosa.

Pela observação histológica das amostras recolhidas (Figura 20 a 25) podemos concluir que os achados histológicos corroboram as observações macroscópicas realizadas e sistematizadas na Tabela 8.

3 - DISCUSSÃO

Neste trabalho experimental optámos por realizar um estudo de terapêutica em modelo animal, já que este tipo de testes pode ser realizado para prever a biocompatibilidade de um determinado produto. Estes testes são tanto mais fidedignos quanto melhor mimetizarem a utilização clínica dos produtos testados, incluindo o tempo, a localização, o meio e a técnica de aplicação. A escolha do animal não foi a ideal, pois os animais mais indicados e que simulam melhor o meio oral e gastrointestinal do homem são os cães ou os macacos (Craig *et al*, 2002). No entanto, existem alguns estudos de indução de patologia gástrica e de biocompatibilidade em modelo animal com ratos (Adam-Rodwell *et al*, 1994; Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 2003; Dahl *et al*, 1995; Redmond *et al*, 1997; Rotstein *et al*, 1993; SCCP, 2005).

Este estudo teve como objectivo testar os efeitos de um produto de branqueamento na mucosa gástrica de ratos, sendo os resultados interpretados consoante a resposta destes tecidos ao contacto com o produto de branqueamento, neste caso, o peróxido de hidrogénio a 6%, em ratos saudáveis e com patologia gástrica não tumoral (Craig *et al*, 2002). Para concretizar este objectivo foi elaborado um desenho experimental com cinco grupos, sendo um, o grupo de controlo sem qualquer manipulação e quatro grupos teste.

Em cada grupo foram manipulados 10 animais. O grupo III é o grupo que mimetiza o objectivo do estudo: avaliar os efeitos de um produto de branqueamento com peróxido de hidrogénio a 6% na mucosa gástrica, em animais com patologia gástrica previamente induzida. Os outros grupos foram integrados no desenho do estudo experimental como controlos positivos dos dois tipos de manipulações efectuadas ao longo do trabalho experimental – a administração do produto de branqueamento e de etanol a 50%.

Para reduzir o risco de aparecimento de algumas patologias gástricas associadas à idade escolheram-se animais com 8 semanas. Os animais usados em estudos com indução de patologia gástrica devem ter idade não superior a 3 meses no início da

experiência. As neoplasias espontâneas do rato raramente surgem antes do ano de idade, e a maioria só se encontra após os 18 meses. Optando por animais jovens diminui-se o risco de surgirem neoplasias espontâneas que possam interferir com o resultado da experiência. No rato velho, com dois anos de idade, observa-se um grande aumento da espessura do epitélio gástrico, o aparecimento de atrofia de algumas glândulas com substituição por tecido conjuntivo de aspecto hialino, dilatações quísticas de algumas glândulas e, por vezes, metaplasia escamosa e ainda depósitos de um material positivo para a coloração de *Mac Manus* e negativo para as colorações da substância amilóide. Assim, os ratos usados devem ter entre 5 a 10 semanas de idade (Craig et al, 2002).

Além deste facto, a maioria dos estudos de indução de patologia gástrica não tumoral e alguns estudos sobre os efeitos gástricos dos produtos de branqueamento utiliza ratos Wistar ou Sprague-Dawley com médias de peso de 200 g a 300 g, o que corresponde a animais com 8 semanas no início do estudo experimental (Birdane *et al*, 2007; Cantürk *et al*, 2000; Cavallini *et al*, 2002; Chang *et al*, 2007; Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 1995; Hernández-Muñoz *et al*, 2000; Konjevoda *et al*, 2000; Lambrecht *et al*, 1993; Mitsuyama *et al*, 2006; Sherwood *et al*, 2002; Xiang *et al*, 2004; Wang *et al*, 2006).

Os animais utilizados neste trabalho experimental com 8 semanas tinham um peso médio de 300 gramas após a semana de quarentena, isto é, decorridos 7 dias (entre 260 g e 385 g), como se pode verificar na tabela 2.

A administração do etanol a 50% e do produto de branqueamento, o peróxido de hidrogénio a 6% foi efectuada por gavagem pela facilidade de manipulação que esta metodologia permite. Uma grande parte dos estudos de indução de patologia gástrica não tumoral utiliza este método de administração (Birdane *et al*, 2007; Cantürk *et al*, 2000; Cavallini *et al*, 2002; Chang *et al*, 2007; Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 1995; Hernández-Muñoz *et al*, 2000; Konjevoda *et al*, 2000; Lambrecht *et al*, 1993; Mitsuyama *et al*, 2006). A facilidade de manipulação e a certificação da recepção do produto no local pretendido, sem perda de parte da dose administrada, são as razões da escolha. Relativamente ao produto de branqueamento, a sua utilização de uma

forma semelhante à prática clínica, não era possível com estes animais. A manutenção de uma moldeira na arcada dentária sem manipulação anestésica, seria uma tarefa impossível de realizar. No entanto, com a administração dos compostos químicos por gavagem, o objectivo do estudo é mantido, já que estes compostos são colocados no local pretendido.

A indução de lesão gástrica não tumoral está amplamente testada nos diversos estudos com modelos experimentais. Podem ser referidos vários métodos para esta indução, como a utilização de indometacina intragástrica, um potente anti-inflamatório não esteroíde (AINE) que provoca lesões agudas na mucosa gástrica de ratos quando administrada durante 15 dias (Cavallini *et al*, 2002; Xiang *et al*, 2004). Outros estudos referem a utilização da indometacina por via subcutânea coadjuvada com a administração de etanol, 1 hora após a administração da indometacina (Lambrecht *et al*, 1993).

Alguns modelos experimentais de indução de lesão gástrica menos referenciados na bibliografia utilizam o método do stresse ao frio (Chang *et al*, 2007) e a indução através da infecção com *Helicobacter pylori* ou a administração da iodoacetamida (Sherwood *et al*, 2002).

Existem, também, modelos para indução de gastrite atrófica crónica que utilizam álcool a 60% coadjuvado com a administração de salicilato de sódio e dióxido de sódio, e amónia na água do biberão (Wang *et al*, 2006; Xiang *et al*, 2004).

Os modelos experimentais mais referenciados na indução de lesão gástrica não tumoral preconizam doses únicas de etanol de 1 a 2 ml com concentrações variáveis de 75%, 80%, 95% ou 100%. A administração do etanol faz-se por gavagem na maioria dos estudos experimentais em ratos (Birdane *et al*, 2007; Cantürk *et al*, 2000; Konjevoda *et al*, 2000; Mitsuyama *et al*, 2005; Palitzsch *et al*, 1995; Rejniok *et al*, 2008). Este modelo experimental pode ter ainda algumas variáveis, como a administração de etanol a 50% em dose única de 1 ml, mas mantendo a água de beber com 5% de etanol durante 5 a 7 dias (Hernández-Muñoz *et al*, 2000). Este foi o modelo experimental escolhido para o nosso estudo, por facilidade de manipulação e devido ao

planeamento dos tempos de administração. Estes tiveram de ser coordenados com a administração do produto de branqueamento. Como esta administração tinha que ser realizada durante 7 dias consecutivos, como será discutido mais à frente, era conveniente que a duração da indução de lesão gástrica decorresse num período de tempo semelhante. Neste caso, era evitado o risco de recuperação da mucosa durante os 6 dias consecutivos à administração da dose única.

Na maioria dos estudos e modelos experimentais, como os referenciados acima, os ratos têm entre 200g a 300g de peso e a dose administrada é na sua grande maioria de 1 ml de etanol por Kg de peso. Esta foi, também, a dosagem escolhida para o nosso estudo experimental, pois a média dos pesos dos animais era semelhante.

Os modelos experimentais com o etanol são extremamente eficazes pois este penetra profundamente na mucosa gástrica devido à sua alta solubilidade lipídica e provoca danos microvasculares, resultando em lesões ulcerativas. Estas lesões são caracterizadas pelo desencadeamento de complexos processos bioquímicos e pela presença de células altamente variáveis, verificando-se que as citocinas e os factores de crescimento desempenham um papel importante na modelação inflamatória (Mitsuyama *et al*, 2005).

Assim, a ingestão de etanol resulta numa gastrite caracterizada histologicamente por edema, hemorragia subepitelial, esfoliação celular, e infiltrado de células inflamatórias. O evento inicial da patogénese das ulcerações da mucosa é uma disfunção microvascular: com vasodilatação arteriolar; congestão vascular ou estase e danos capilares (Konjevoda *et al*, 2000).

Estas lesões gástricas induzidas por estes métodos podem, decorrido algum tempo desde a administração do etanol, regenerar e restabelecer gradualmente a superfície epitelial da mucosa (Konjevoda *et al*, 2000; Mitsuyama *et al*, 2005).

O outro composto químico utilizado no nosso estudo experimental foi o peróxido de hidrogénio a 6%. A escolha deste produto deveu-se, essencialmente, à sua larga utilização clínica e aos poucos estudos experimentais sobre os seus efeitos adversos. O peróxido de carbamida tem sido produto exaustivamente estudado ao longo de

vários anos, principalmente na concentração de 10%. As formulações comerciais à base de peróxido de hidrogénio são mais recentes e têm, geralmente, concentrações de peróxido de hidrogénio mais elevadas, como acontece com o produto estudado. Este aumento da concentração pode agravar alguns efeitos adversos conhecidos.

A utilização do peróxido de hidrogénio a 6% neste estudo requereu uma análise da dose provável de administração, contribuindo para esta ponderação diversos factores.

Alguns autores referem que durante uma hora de utilização das moldeiras com produto de branqueamento, cerca de 50% escapa da moldeira. Parte é ingerido com risco de efeitos adversos (Dahl *et al*, 1995). Além deste aspecto, outro factor a ter em conta é a presença, nestes produtos, de carbopol. Este prolonga no tempo a libertação do oxigénio pelo peróxido, contribuindo para maiores níveis de toxicidade. Estes dois factores foram essenciais na determinação da dose administrada aos animais.

Tal como foi referido acima, o desenho do estudo experimental deve mimetizar o melhor possível a utilização clínica do produto a testar. Neste caso, o fabricante indica a utilização durante 1 hora por dia, em dois períodos de 30 minutos numa terapêutica com duração de 3 a 7 dias [Colgate® “Visible White”™ (Colgate Oral Pharmaceuticals Inc, New York, USA)].

A determinação da dose administrada aos animais, bem como, o tempo de estudo, basearam-se no protocolo clínico recomendado pelo fabricante e em diversos estudos experimentais e clínicos sobre terapêuticas de branqueamento em ambulatório. A maioria dos estudos clínicos concluiu que estas terapêuticas com peróxido de carbamida ou peróxido de hidrogénio, em concentrações de 15 a 20%, dependendo do princípio activo, devem ser realizadas durante 15 a 30 dias de acordo com o tipo de colorações.

Os estudos experimentais *in vivo* com animais são escassos e preconizam, geralmente, doses únicas ou manipulações diárias durante 1 semana.

Num estudo experimental foi administrado em ratos uma dose única de 5g/kg de peso de uma preparação comercial contendo peróxido de carbamida com diferentes concentrações, 10%, 15% e 35%. Dos 22 ratos do grupo com concentração maior de peróxido de carbamida, três morreram em 48 horas após a administração do produto. A

sintomatologia inicial da generalidade dos animais correspondia a sinais de esgotamento agudo, incluindo: diminuição da frequência respiratória; comprometimento da mobilidade; diminuição da abertura ocular e incontinência. A gravidade destes sintomas foi tanto maior quanto mais elevada a concentração de peróxido de carbamida. Nas primeiras horas após a administração dos produtos de branqueamento foi observada uma diminuição da temperatura corporal e uma diminuição do consumo de água pelos animais. Os seus pesos foram monitorizados, tendo sido observada diminuição deste no 1º dia após a administração do produto, dando-se a recuperação do peso após o 2º dia. Os animais foram sacrificados decorridos 15 dias da administração do peróxido de carbamida. Não se verificaram lesões gástricas macroscopicamente relevantes. No entanto, o exame histológico das mucosas dos animais aos quais foi administrado o produto com maior concentração, apresentava áreas de tecido necrótico, infiltrado eritrocitário no tecido conjuntivo intercelular e destruição das glândulas gástricas. Nos grupos com administração de concentrações menores não foi observada qualquer alteração histológica. Após os 15 dias da administração do produto de branqueamento houve uma recuperação, com diminuição dos sintomas iniciais de toxicidade, prevendo-se que, após a ocorrência de lesões por administração do peróxido de hidrogénio, a mucosa gástrica recuperou. Este facto pode ser comprovado nas observações macroscópicas e histológicas que foram normais. Os autores deste estudo justificam a escolha desta dose, dentro das linhas de orientação do *Federal Register* (1985), como sendo a dose limite para ser testada em estudos de toxicidade em animais (Cherry *et al*, 1993).

Outro estudo semelhante, utilizando a mesma dose única de 5g/Kg de peso com um produto de branqueamento à base de peróxido de hidrogénio a 6%, indica a recuperação da mucosa gástrica ao fim de 15 dias de administração do produto. Mesmo assim, nos primeiros dias observaram-se células da mucosa gástrica vacuolizadas e glândulas gástricas dilatadas (Redmond *et al*, 1997).

Outros estudos utilizaram doses únicas de 150mg a 500mg por Kg de peso de um produto de branqueamento contendo peróxido de carbamida, administradas por gavagem. Após 24 horas observam-se algumas alterações histológicas relevantes.

Estas alterações foram detectadas em maior número com a administração deste produto, quando comparadas com o peróxido de carbamida na sua formulação simples. Estas diferenças na gravidade dos sintomas e sinais, devem-se provavelmente à inclusão de carbopol nas preparações comerciais, tornando os produtos mais espessos e com maior aderência à mucosa. Este estudo baseou a escolha das doses administradas de acordo com as recomendações do *British Toxicology Society* (Dahl *et al*, 1995).

Um trabalho semelhante aos anteriores usou doses repetitivas durante 5 dias, de 1g/kg de peso, de um produto de branqueamento comercial, numa tentativa de reproduzir os procedimentos clínicos numa terapêutica em ambulatório (Adam-Rodwell *et al*, 1994).

Estes estudos permitem concluir que a lesão da mucosa gástrica após a administração de um produto de branqueamento, é transitória e recuperável. A utilização da catalase pode diminuir o aparecimento das lesões da mucosa gástrica e esofágica, prevenindo as reacções patológicas (Rotstein *et al*, 1993).

Este estudo decorreu durante 15 dias, devido à necessidade de conjugar o tempo de indução de lesão gástrica não tumoral (cerca de 7 dias) e o tempo de terapêutica com o peróxido de hidrogénio, baseado na média do tempo recomendado pelo fabricante. Foram levados em consideração alguns estudos clínicos (Dunn, 1998; Gerlach *et al*, 2004; Haywood, 2000). Relativamente à dose administrada escolheu-se 1g/kg de peso, uma vez que os estudos consultados sugerem ser a mais próxima da dose clínica. Além disso, está em acordo com as prescrições das terapêuticas em ambulatório com o mesmo tipo de produto, efectuadas por alguns autores (Adam-Rodwell *et al*, 1994; Cherry *et al*, 1993; Dahl *et al*, 1995; Redmond *et al*, 1997; Rotstein *et al*, 1993). Pretendemos com este trabalho pesquisar não só a toxicidade sistémica, mas também, extrapolar algumas indicações e recomendações para a prática clínica, com base nos resultados obtidos com este modelo experimental.

Durante o decorrer do estudo experimental, não se restringiu a água de consumo aos animais manipulados com a administração de peróxido de hidrogénio, mas a dieta foi-

lhes restrita durante 3 horas após a sua administração. Segundo alguns estudos, dever-se-á restringir a dieta durante as primeiras 3 horas após a administração do produto de branqueamento, para que este não seja diluído pelos alimentos, diminuindo a sua acção (Adam-Rodwell *et al*, 1994; Cherry *et al*, 1993; Dahl, 2003). Outros autores referem que esta restrição deve manter-se por 4 horas (Dahl *et al*, 1995).

A eutanásia, realizada por estiramento cervical foi a opção escolhida para prevenir complicações na avaliação dos resultados devido à actuação de diversas drogas em simultâneo (Navia *et al*).

A observação dos animais na sua evolução clínica, durante o período de estudo, tinha sugerido a possibilidade de toxicidade sistémica devido à presença de sinais característicos, nomeadamente o pêlo áspero, a sua queda e o menor ganho de peso em relação ao grupo controlo. Estas ocorrências determinaram a necessidade de avaliar macroscopicamente alguns órgãos, nomeadamente o pulmão e o baço, órgãos-alvo em termos de toxicidade sistémica de um produto químico.

Pesquisando a eventual presença de toxicidade sistémica avaliaram-se: a evolução dos pesos dos animais ao longo do estudo experimental e a relação do peso do baço com o peso do animal (sinais de esplenomegália); observaram-se e fotografaram-se os pulmões de todos os animais.

Da análise estatística dos resultados podemos dizer que a evolução do peso dos animais ao longo do estudo indica que existe uma diminuição do aumento de peso em todos os grupos experimentais manipulados, quando comparados com o aumento de peso do grupo controlo. No entanto, este aumento mantém-se constante, embora mais ligeiro em todos os grupos, excepto nos grupos IV e V-B. Nestes grupos referidos a perda de peso ocorre após a administração de etanol a 50%, indicando toxicidade sistémica transitória. Por outro lado a administração do peróxido de hidrogénio não induz perda do peso, mas sim, diminuição acentuada do aumento do peso. Estes dados revelam a presença de toxicidade sistémica, mas menos grave do que aquela induzida pela administração do etanol.

Da análise estatística dos dados do peso do baço dos grupos em estudo, verificam-se diferenças estatisticamente significativas detectadas nos grupos manipulados quando comparados com grupo controlo. Estas são caracterizadas por uma diminuição do peso do órgão em causa. No entanto, o que seria expectável numa situação de toxicidade sistémica era um aumento do peso deste órgão. Estas diferenças negativas parecem ser explicáveis pela diminuição do ganho de peso verificado nestes animais e, conseqüentemente, uma diminuição do peso dos seus órgãos na generalidade.

A variação do peso do baço em relação ao peso do animal respectivo poderia ser importante para a avaliação da presença de toxicidade sistémica. Com valores superiores aos do grupo controlo, poder-se-ia considerar um aumento do peso do baço e conseqüentemente a presença de esplenomegália. No entanto, apenas há uma variação estatisticamente significativa em relação ao grupo controlo, mas no sentido negativo, indicando um menor peso do baço. Parece no entanto, haver uma variação no sentido positivo nos grupos III e V-B que poderá indicar a presença de esplenomegália. No entanto, não é estatisticamente significativa.

Relativamente à observação macroscópica do pulmão, como demonstram as imagens da figura 11, foram detectados diversos sinais de toxicidade como grandes áreas hemorrágicas com formação de placas e fibrose e com hiperémia generalizada.

Perante todos estes dados, e a conjugação deles em simultâneo parece haver sinais de toxicidade sistémica induzida quer pelo produto de branqueamento, o peróxido de carbamida a 6%, quer pelo etanol a 50%. A gravidade desta toxicidade sistémica é maior nos grupos III, IV e V-B, indicando que ambos os produtos podem ser a causa desta. No entanto, a sua intensidade poderá ser maior nos grupos em cujo último produto administrado foi o etanol. A recuperação de peso de alguns grupos leva a supor ser uma toxicidade transitória. A evolução desta em terapêuticas mais longas é desconhecida, desconhecendo-se a sua irreversibilidade.

Relativamente ao esófago não foram detectadas pela observação macroscópica,

quaisquer alterações. A mucosa esofágica tem um aspecto normal em toda a sua extensão. Esta ausência de alterações deve-se, provavelmente, ao facto da administração do peróxido de hidrogénio ser por gavagem, assim como a administração do etanol a 50%. O etanol a 50% seria o composto de indução de patologia gástrica não tumoral que, eventualmente, provocaria lesões, não se prevendo que o etanol a 5% diluído na água de consumo diário origine qualquer tipo de lesões esofágicas, como demonstram os dados recolhidos neste estudo experimental.

A análise macroscópica da mucosa gástrica foi efectuada com base em diversos parâmetros. Estes parâmetros foram escolhidos de forma a caracterizarem o tipo de alterações induzidas pelos diferentes compostos químicos utilizados e a gravidade conjugada com a frequência das mesmas. Pretendemos, igualmente, avaliar se os diferentes tipos de alterações da mucosa, traduzidos nos diversos parâmetros escolhidos, eram mais característicos de um tipo de composto químico em detrimento do outro, ou de ambos em conjunto. Assim, tal como era expectável o primeiro parâmetro foi o padrão no grupo controlo, observando-se uma mucosa gástrica com aspecto normal em todos os animais do grupo. Neste, apenas um rato apresentava apagamento das pregas da mucosa com uma frequência baixa. Este dado não foi considerado relevante, provavelmente, apenas terá sido uma variação anatómica. Neste parâmetro que avalia o aspecto normal da mucosa, um animal do grupo V-A e dois animais do grupo V-B apresentaram um enquadramento positivo. Este facto pode, eventualmente ser explicado por uma resistência destes animais ao etanol, não apresentando por isso lesões compatíveis com uma indução de lesão gástrica não tumoral.

Todos os animais dos grupos manipulados apresentaram frequências mais ou menos elevadas, com um maior ou menor número de animais integrados nelas, excepto para o último tipo de alterações que traduziam áreas macroscopicamente correspondentes a úlceras. Assim para os parâmetros da presença de áreas macroscopicamente correspondentes a inflamação, hemorragia e de áreas com apagamento das pregas da mucosa todos os grupos manipulados apresentavam frequências positivas. Estes

resultados eram esperados, uma vez que, em todos estes grupos, foram administradas substâncias susceptíveis de provocar lesões na mucosa gástrica. Nestes grupos referidos, os parâmetros das áreas correspondentes a inflamação e hemorragia têm uma maior incidência, isto é, uma maior percentagem de animais afectados, particularmente nos grupos III e IV. Estes dois grupos foram manipulados com os dois tipos de compostos químicos. Relativamente aos parâmetros referidos, ambos são mais frequentes no grupo IV, com maior número de zonas macroscópicas correspondentes a inflamação e hemorragia. No entanto, no grupo III verifica-se a presença de lesões num maior número de animais, embora menos frequentes. O produto de branqueamento administrado a ratos com presença de lesão gástrica não tumoral contribui para a manutenção destas mesmas lesões, podendo ocorrer, eventualmente, alguma evolução clínica favorável das mesmas. Os resultados do grupo IV sugerem haver um agravamento das lesões gástricas provocadas pelo produto de branqueamento, quando em presença do etanol a 50% e depois da água de beber com 5% de etanol. Os grupos II e V, aos quais foi apenas administrado um único tipo de composto químico, estes parâmetros referidos são positivos, mas parece não existir um padrão definido do tipo de lesões mais frequentes. Corroborando estes resultados, a presença de úlceras é, também, mais frequente nos grupos III e IV.

A combinação destes dois compostos químicos parece apresentar um sinergismo, potenciando o aparecimento de lesões e mantendo-as activas, embora este facto seja menos evidente quando o produto de branqueamento é administrado na última semana de estudo.

O apagamento das pregas da mucosa não parece respeitar nenhum tipo de padrão, embora seja mais frequente nos grupos III, IV e V-A. No entanto, embora nalguns animais este parâmetro seja evidente, como se pode observar nas fotografias da necrópsia (Figuras 16 a 18), ele pode ocorrer em zonas limitadas da mucosa e/ou por variações anatómicas ligeiras.

Tal como referido no início desta discussão, os estudos experimentais de terapêutica procuram reproduzir as situações da prática clínica. Por isso é importante avaliar os efeitos, no ser humano, da utilização destes produtos à base de peróxido de hidrogénio.

A avaliação do risco de uma terapêutica de branqueamento externo deve ser, tradicionalmente, caracterizada por 4 etapas. Consideram-se a identificação do risco, a relação dose do produto-resposta do organismo, a avaliação da exposição ao produto e a caracterização do risco (IPCS, 1999). A identificação do risco num tratamento de branqueamento pode incluir alguns dos efeitos secundários deste tipo de terapêutica. No entanto, nesta discussão abordamos apenas o risco de ingestão do produto, neste caso o peróxido de hidrogénio. Foram os efeitos secundários, consequentes da ingestão deste produto, o objectivo do estudo.

A caracterização do risco é obtida através da relação entre a exposição ao produto, (quantidade ingerida) com a intensidade de resposta da mucosa gástrica e ao contacto com esse mesmo produto - o peróxido de hidrogénio.

Os valores NOAEL (*no observed adverse effect level*) baseados em diversos estudos de exposição a doses repetitivas de peróxido de hidrogénio *per os*, foram estimados num intervalo de 26 a 56 mg/Kg de peso BW (*Body weight*)/ por dia (Dahl *et al*, 2003; Weiner *et al*, 2000). Estes estudos referenciados são consistentes nas suas conclusões, considerando-se, assim, o valor 26 mg/kg/por dia como o limite NOAEL para a avaliação de risco que se segue (SCCP, 2005).

A quantidade de produto de branqueamento utilizado para uma terapêutica de uma arcada dentária foi calculada em 900 mg por aplicação, quando administrado segundo as indicações do fabricante (Dahl *et al*, 1995, Dahl *et al*, 2003) e de 500 mg por aplicação segundo outros estudos clínicos (Li, 1996). De acordo com as recomendações de Haywood e Heymann devem ser colocadas 3 gotas de produto de branqueamento no reservatório correspondente a cada dente. Numa terapêutica de branqueamento externo são, geralmente, sujeitos a tratamento 10 dentes (desde o 2º pré-molar até ao 2º pré-molar contralateral). São, assim, utilizadas 30 gotas de produto de branqueamento. Tendo em conta que cada gota tem como peso 30 mg, aplicamos

900 mg (30 gotas x 30 mg) em cada aplicação por arcada dentária (Dahl *et al*, 1995; Haywood *et al*, 1989).

Por outro lado, segundo alguns autores, durante uma terapêutica de branqueamento, com utilização de moldeiras individualizadas e com aplicações de 2 horas, são ingeridos cerca de 25% do produto de branqueamento (Matis *et al*, 2002). Outros estudos referem que esta ingestão de produto de branqueamento pode ir dos 10% até 50%, após 1 hora de terapêutica (Dahl *et al*, 2003). O factor de segurança é entendido como sendo a margem adequada de segurança para um indivíduo exposto a um produto químico (IPCS/JECFA, 1987), sendo recomendável o seu cálculo para estabelecer um nível de exposição máxima aceitável do produto de branqueamento.

Para o cálculo da exposição de produto de branqueamento e do factor de segurança dessa mesma exposição, Dahl *et al*. propuseram 2 fórmulas aplicáveis aos princípios gerais de avaliação de risco, que se podem observar na figura 26 (Dahl *et al*, 2003).

$$\text{Safety factor} = \frac{\text{No observed adverse effect level}}{\text{Exposure}}$$
$$\text{Exposure} = \frac{\text{Amount of solution applied in the tray X concentration of H}_2\text{O}_2 \text{ X 25 \% ingested}}{\text{Body weight (60 kg)}}$$

Figura 26 – Fórmula de cálculo do factor de segurança (Dahl *et al*, 2003).

Estes autores calcularam a exposição ao peróxido de hidrogénio resultante de uma terapêutica de branqueamento e o respectivo factor de segurança, utilizando várias concentrações de produto de branqueamento, tendo por base um indivíduo com um peso médio de 60 Kg. Os resultados estão na figura 27 (Dahl *et al*, 2003).

Preparation	H ₂ O ₂ Concentration ^a	Exposure to H ₂ O ₂ (mg/kg BW/application) ^b	Safety Factor ^c	Exposure to H ₂ O ₂ (mg/kg BW/application) ^d	Safety Factor ^c
Carbamide peroxide 10%	3.6%	0.075	350	0.14	185
Carbamide peroxide 15%	5.4%	0.11	240	0.20	130
Carbamide peroxide 22%	7.9%	0.16	160	0.29	89
Carbamide peroxide 35% ^e	12.6%	0.26	100	0.47	55

^a H₂O₂ concentration determined based on the composition of carbamide peroxide that consists of 36% H₂O₂ (mol w) and 64% urea (Budavari *et al.*, 1989).
^b Exposure based on bleaching 10 teeth with 500 mg bleaching agent (Li, 1996), 25% of the bleaching agent ingested during 2 hrs (Matis *et al.*, 2002), and the WHO body weight estimate (60 kg) (Woodward, 1996).
^c Safety factor = NOAEL/exposure (rounded to nearest 10) (Fig. 7). The NOAEL value is 26 mg/kg BW/day. The minimum acceptable safety factor, based on data derived from animal studies, is 100 (Woodward, 1996).
^d Exposure based on bleaching 10 teeth with 900 mg bleaching agent (Dahl and Becher, 1995), 25% of the bleaching agent ingested during 2 hrs (Matis *et al.*, 2002), and the WHO body weight estimate (60 kg) (Woodward, 1996).
^e This concentration is intended for professional use only. The calculation is included in case the patient uses the preparation at home.

Figura 27 – Exposições ao peróxido de hidrogénio durante 2 horas de uma terapêutica de branqueamento de uma arcada dentária com moldeiras individualizadas e os factores de segurança correspondentes.

O factor de segurança, como demonstra a tabela da figura 27, varia entre 350 a 55. Alguns autores baseados em estudos experimentais com animais em que avaliaram o grau de toxicidade do peróxido de hidrogénio, defendem que na avaliação do risco o factor de segurança mínimo aceitável é 100 (Dahl et al, 1995; Dahl et al, 2003; IPCS/JECFA, 1987). Este factor de segurança é, geralmente, o valor aplicável, uma vez que se considera que o homem é 10 vezes mais sensível do que os testes em animais (IPCS/JECFA, 1987).

Assim, com base na tabela anterior, em produtos de branqueamento que contenham mais de 12,6% de peróxido de hidrogénio, quando são efectuadas aplicações de uma arcada de 500 mg de produto de branqueamento, o factor de segurança não é conseguido. Com aplicações de 900 mg por arcada, o factor de segurança mínimo exigido não permite a utilização de produtos de branqueamento com concentrações de peróxido de hidrogénio superiores a 3,5%, o que corresponde a uma concentração de peróxido de carbamida de 10%.

Alguns autores, baseados em estudos clínicos, estimaram que a ingestão total de peróxido de carbamida a 10% pelo ser humano, durante uma terapêutica de branqueamento, prevê um factor de segurança calculado de 239, enquadrando-se no nível da não observação de efeitos secundários (Tam, 1999)

Os produtos de branqueamento mais utilizados em terapêuticas em ambulatório, como o peróxido de hidrogénio e o peróxido de carbamida em concentrações máximas de 6%, para o primeiro e de 20% para o segundo, cumprem o limite mínimo de segurança. No entanto, podem ocorrer efeitos adversos quando este limiar mínimo é ultrapassado, o que acontece com alguma facilidade para factores de segurança inferiores a 100. Para isso apenas é necessário um aumento da exposição ao produto de branqueamento. As situações clínicas nas quais podem ocorrer aumentos da exposição ao produto de branqueamento são as terapêuticas mais longas, como são exemplo as colorações por tetraciclinas; quando ocorrem múltiplas aplicações diárias e em terapêuticas simultâneas das arcadas superior e inferior. Este aumento de exposição pode, também, ocorrer quando são efectuadas aplicações nas quais é utilizado produto em excesso, sem o seu adequado extravasamento e desperdício, e em terapêuticas que utilizam moldeiras mal adaptadas. Com estas o extravasamento do produto de branqueamento é superior, com o conseqüente risco de ser ingerido. Em doentes com movimentos parafuncionais podem ocorrer perfurações das moldeiras, aumentando a libertação de produto de branqueamento para a cavidade oral. Embora esta terapêutica possa ser efectuada de dia ou durante a noite, alguns autores recomendam a sua prescrição durante a noite pois existe menor pressão oclusal e diminuição do fluxo salivar reduzindo a diluição do produto de branqueamento na saliva.

Em relação ao nosso estudo, aplicando as fórmulas acima referidas para a concentração de peróxido de hidrogénio utilizada, com uma quantidade de produto de branqueamento de 900 mg, num indivíduo com 60 Kg de peso, teremos:

$$\text{Exposição} = 900 \text{ mg} \times 6\% \times 25\% / 60 = 0,225 \text{ mg/kg}$$

$$\text{Factor de segurança} = 26 \text{ mg} \times 60 \text{ Kg} / 0,225 \text{ mg/kg} = 115,5$$

Verificamos que a concentração de peróxido de hidrogénio (6%) utilizada no estudo, é adequada para terapêuticas em ambulatório, mas o factor de segurança encontra-se

próximo do limite mínimo. Assim, as terapêuticas efectuadas com este produto de branqueamento devem ser bem monitorizadas pelo médico dentista, evitando o excesso de aplicações e de produto, com a remoção criteriosa dos excessos, prevenindo a ingestão do mesmo. As moldeiras devem ser sempre individualizadas para melhor confinamento do produto e as terapêuticas devem ser efectuadas individualmente em cada arcada dentária.

4 - CONCLUSÕES

Do estudo experimental concluímos que os produtos de branqueamento à base de peróxido de hidrogénio numa concentração de 6% podem provocar toxicidade sistémica nos animais aos quais foram administrados. Um dos sinais que corroboram este achado são a evolução do aumento de peso dos animais neste estudo. Esta é influenciada pela administração do peróxido de hidrogénio no sentido de um menor aumento de peso nos dias subsequentes à sua administração. No entanto, após 3 a 4 dias há uma recuperação do peso dos animais, revelando que esta toxicidade sistémica induzida é reversível ao fim deste tempo. Em relação à presença de esplenomegália não parece haver sinais de variações estatisticamente significativas do peso do baço, nem alterações acentuadas das suas dimensões.

A utilização de produtos de branqueamento à base de peróxido de hidrogénio a 6% em animais com lesão gástrica não tumoral, não parece agravar as lesões gástricas. A utilização de produtos de branqueamento à base de peróxido de hidrogénio a 6% em animais induz o aparecimento de lesões gástricas com gravidade moderada, mas generalizadas em todos os animais sujeitos a essa administração.

As conclusões retiradas deste estudo experimental podem influenciar a nossa prática clínica no que respeita à prescrição de terapêuticas de branqueamento dentário. Perante a presença de uma ligeira toxicidade sistémica e de algumas lesões da mucosa gástrica, recomenda-se ponderação na aplicação destas terapêuticas. Algumas das recomendações, que nos parecem essenciais, passam por: não aumentar as doses administradas; não alargar a frequência de utilização; utilizar concentrações moderadas do produto de branqueamento e controlar os doentes criteriosamente durante o decorrer das terapêuticas.

5 - RESUMO

A valorização da estética dentária precipitou vários desenvolvimentos na investigação dos materiais dentários relacionados com a estética. Muitas expectativas têm sido depositadas na investigação científica na área do branqueamento dentário. A comercialização livre destes produtos constitui um problema e é alvo de várias interpretações quanto à sua legalidade. Existem várias técnicas de branqueamento dentário, sendo a mais utilizada a técnica de branqueamento externo, cujo princípio é o da aplicação destes produtos sobre a estrutura dentária durante um determinado tempo.

Esta técnica pode ser realizada no consultório pelo médico-dentista ou em ambulatório controlada pelo doente e, eventualmente, supervisionada em controlos semanais pelo médico-dentista. É nesta última versão da técnica de branqueamento externo que reside o maior perigo de ingestão dos produtos de branqueamento. Tornou-se, assim, importante elaborar um estudo experimental sobre a acção destes produtos nas mucosas, nomeadamente na mucosa gástrica com ou sem patologia não tumoral.

Para a realização deste estudo foram utilizados 50 ratos da estirpe “Wistar-Han”, com 8 semanas de idade, com cerca de 250 gramas de peso. Na 1ª semana, os 50 animais ficaram de quarentena. Nos períodos II e III, que decorreram na 2ª e 3ª semanas, os animais dos grupos II, III, IV e V foram sujeitos a protocolo de indução de patologia gástrica não tumoral, através da administração de um composto químico, e/ou administração de produto de branqueamento, por gavagem. Para a indução de patologia gástrica não tumoral administrou-se uma dose única de 1ml/Kg de etanol a 50% e nos 6 dias subsequentes disponibilizou-se etanol a 5% na água de beber. Na administração de produto de branqueamento utilizou-se uma preparação comercial à base de peróxido de hidrogénio a 6% [Colgate® “Visible White”™ (Colgate Oral Pharmaceuticals Inc, New York, USA)], com uma dosagem de 1g/Kg durante 7 dias. Dos 5 grupos com 10 animais cada, o grupo I foi o grupo de animais saudáveis onde não foi efectuada qualquer manipulação. Ao grupo II administrou-se o produto de branqueamento. Este grupo foi dividido em dois sub-grupos, sendo no subgrupo A

administrado na 2ª semana e no sub-grupo B administrado na 3ª semana. Cada sub-grupo tinha 5 animais. O grupo III, grupo de animais com lesão gástrica induzida durante a 2ª semana e administração de produto de branqueamento na 3ª semana. O grupo IV, grupo de animais em que se administrou produto de branqueamento na 2ª semana e com lesão gástrica induzida durante a 3ª semana. No grupo V foi induzida, lesão gástrica. Este grupo foi dividido em dois sub-grupos, sendo no sub-grupo A induzida na 2ª semana e no sub-grupo B induzida na 3ª semana. Cada subgrupo tinha 5 animais. No final da 3ª semana todos os animais foram sacrificados.

Dos dados recolhidos foram efectuadas análises estatísticas de variância (ANOVA) e a comparação múltipla de pares de médias ao longo dos tempos em estudo através de um teste t de Student. Foi ainda efectuada uma análise de frequência dos resultados da observação macroscópica da mucosa gástrica. A análise estatística foi realizada pelo programa de software de estatística JMP (JMP Version 7, SAS Institute, Inc., NC, USA). As diferenças foram consideradas significativas para uma probabilidade superior a 95% ($p < 0,05$). Verificou-se uma diminuição do aumento de peso nos animais dos grupos manipulados durante o tempo de estudo, sendo esta mais acentuada nos grupos IV e V-A. As variações do peso do baço em relação ao peso do animal não revelaram alterações estatisticamente significativas. A mucosa gástrica revelava, em todos os grupos manipulados, lesões, sendo estas mais frequentes nos grupos III e IV, parecendo haver um sinergismo quando são utilizados o peróxido de hidrogénio e o etanol a 50% no mesmo grupo. Podemos concluir que parece haver alguns sinais de toxicidade sistémica nos 3 a 4 dias após a administração do peróxido de hidrogénio a 6%, e uma indução de lesões gástricas generalizadas e moderadas.

SUMMARY

The value of the aesthetic dentistry precipitated several developments in the investigation of dental materials related to esthetic dentistry. Many expectations have been deposited in scientific research in the area of tooth whitening. The free marketing of these products is a problem and is subject to various interpretations as to its legality. There are several techniques for tooth whitening, the most used it's the technique of external bleaching, the principle is the application of these products on the tooth structure for a certain time.

This technique can be performed at the clinic by the dentist or ambulatory controlled by the patient and possibly supervised in weekly checks by the dentist. It is the latest version of the technique that is the greatest danger of eating the products of bleaching. He is therefore important to devise an experimental study on the action of these products on mucosa, especially in the gastric mucosa with or without non-tumor pathology.

For this study we used 50 mice of the strain "Wistar-Han", with 8 weeks of age, with about 250 grams of weight. In week 1, 50 animals were quarantined. In periods II and III, which took place on 2nd and 3rd weeks, the animals in groups II, III, IV and V were subjected to induction protocol not gastric tumor by administering a chemical compound, and/or administration of bleaching agent, by gavage. For the induction of not gastric tumors, administered a single dose of 1ml/kg of 50% ethanol and the subsequent 6 days were made available to 5% ethanol in drinking water. In the management of bleaching agent we used a commercial preparation of (Colgate Oral™ Colgate Visible White "®hydrogen peroxide 6% [Pharmaceuticals Inc, New York, USA]) at a dose of 1g during 7 days. Of the 5 groups with 10 animals each, group I was the group of healthy animals where there has been no manipulation. Group II was administered the bleaching agent. This group was divided into two sub-groups, the subgroup A administered in week 2 and the sub-group B administered in week 3. Each sub-group had 5 animals. The group III, group of animals with gastric damage induced during the 2nd week and bleaching agent during the 3rd week. The group IV, group of

animals that were given the bleaching agent in 2nd week and gastric damage induced during the 3rd week. In group V was induced gastric injury. This group was divided into two sub-groups, with the sub-group A induced in 2nd week and the sub-group B induced in 3rd week. Each subgroup had 5 animals. At the end of the 3rd week all animals were sacrificed.

From the data collected were made statistical analysis of variance (ANOVA) and multiple comparison of pairs of means over time in a study by a t Student test. It was also performed a frequency analysis of the results of macroscopic observation of the gastric mucosa. Statistical analysis was performed using the statistical software JMP (JMP Version 7, SAS Institute Inc., NC, USA). Differences were considered significant for a probability higher than 95% ($p < 0.05$). There was a decrease in body weight in animals of groups handled during the study period, which was most pronounced in groups IV and V-A. Changes in the spleen weight relative to body weight revealed no statistically significant changes. The gastric mucosa revealed in all groups manipulated lesions, which were more frequent in groups III and IV, there appears to be a synergism when using hydrogen peroxide and 50% ethanol in the same group. We can conclude that there seems to be some signs of toxicity in 3 to 4 days after administration of hydrogen peroxide 6%, and induction of gastric lesions and generalized moderate.

6 - BIBLIOGRAFIA

AAPD. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on dental bleaching for child and adolescent patients. 2004.

ADA. American Dental Association. ADA Guide to Dental Therapeutics. Third edition. 2003. Pp: 252-260.

ADA. American Dental Association. ADA statement on the safety and effectiveness of tooth whitening products.2008.

Adam-Rodwell G, Kong BM, Bagley DM, Tonucci D, Christina LM. Safety profile of colgate platinum professional toothwhitening system. Compendium. 1994; 17: S622-666.

Addy M., Moran J. Extrinsic tooth discoloration by metals and chlorhexidine, iron and tea. Br Dent J 1985; 159: 331-334.

Alberts HF. Dentine and sensitivity. Adept Report 2000; 6:4, 10-11.

Almas K, Al-Harbi M, Al-Gunaim M. The effect of a 10% carbamide peroxide home bleaching system on the gingival health. The Journal of Contemporary Dental Practice. 2003; 1(4): 032-041.

Araujo Jr EM., Baratieri LN, Vieira LCC, Ritter AV. In situ effect a 10% carbamide peroxide on microhardness of human enamel: function of time. Journal of Esthetic and Restorative Dentistry. 2003; 15(3): 166-174.

Arcari GM, Baratieri LN, Maia HP, Freitas SFT. Influence of the duration of treatment using a 10% carbamide peroxide bleaching gel on dentin surface microhardness: an in

situ study. Quintessence International. 2005; 36(1): 15-24.

Attin T, Paqué F, Ajam F, Lennon ÁM. Review of the current status of tooth whitening with the walking bleach technique. International Endodontic Journal 2003; 36: 313-329.

Attin T, Hannig C, Wiegand A, Attin R. Effect of bleaching on restorative materials and restorations – a systematic review. Dental Materials. 2004; 20: 852-861.

Attin T, Albrecht K, Becker K, Hannig C, Wiegand A. Influence of carbamide peroxide on enamel fluoride uptake. Journal of Dentistry. 2006;34: 668-675.

Baratieri L, Monteiro Junior S, Andrada M, Vieira L. Clareamento caseiro. Em: clareamento dental (eds: Baratieri L, Monteiro Junior S, Andrada M, Vieira L.) Quintessence books 1993. S. Paulo. Pp 31-51.

Baratieri LN, Ritter AV, Monteiro Jr S, Andrada MAC, Vieira LCC. Nonvital tooth bleaching: guidelines to the clinician. Quintessence International. 1995. 26(9): 597-608.

Barkholder RA, Kempler D, Plesh X. Effect on non-vital tooth bleaching on microleakage of resin composite restorations. Quintessence Int 1997; 28; 341-344.

Barnes DM, Kihn PW, Romberg E, George D, DePaola L, Medina E. Clinical evaluation of a new 10% carbamide peroxide tooth-whitening agent. Compendium. 1998. 19(10): 968-978.

Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. JADA. 2003, 134: 1335-1342.

Basting RT, Rodrigues JA, Serra MC, Pimenta LAF. Shear bond strength of enamel treated with seven carbamide peroxide bleaching agents. Journal of Esthetic and

Restorative Dentistry. 2004; 16(4): 250-260.

Benetti AR, Valera MC, Mancini MNG, Miranda CB, Balducci I. In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber. International Endodontic Journal. 2004; 37: 120-124.

Birdane FM, Cemek M, Birdane YO, Gülçin I, Büyükokuroglu ME. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. World J Gastroenterol. 2007; 13(4): 607-611.

Bizhang M, Seemann R, Duve G, Römhild G, Altenburger MJ, Jahn KR, Zimmer S. Demineralization effects of 2 bleaching procedures on enamel surfaces with and without post-treatment fluoride application. Operative Dentistry. 2006; 31(6): 705-709.

Bowles WH, Bokmeyer TJ. Staining of adult teeth by minocycline: binding of minocycline by specific proteins. J Esthet Dent 1997; 9(1): 30-34.

Browning WD, Chan DCN, Frazier KB, Cllan RS, Blalock JS. Safety and efficacy of a nightguard bleaching agent containing sodium fluoride and potassium nitrate. Quintessence International. 2004; 35(9): 693-698.

Busato ALS, González-Hernández PA, Macedo RP. Tratamento do Discromatismo Dental in “Dentística – Restaurações estéticas”. São Paulo. Artes Médicas. Primeira Edição. 2002: cap. 12: 489-574.

Bussadori SK, Rego MA, Silva PE, Pinto MM, Pinto ACG. Esthetic alternative for fluorosis blemishes with the usage of a dual bleaching system based on hydrogen peroxide at 35%. The Journal of Clinical Pediatric Dentistry. 2004; 28(2): 143-146.

Caballero AB; Navarro LF, Lorenzo JA. At-home vital bleaching: a comparison of

hydrogen peroxide and carbamide peroxide treatments. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11: E94-99.

Campos I, Briso ALF, Pimenta LAF, Ambrosano G. Effects of bleaching with carbamide peroxide gels on microhardness of restoration materials. *Journal Esthetic Restorative Dentistry*. 2003; 15(3): 175-183.

Canay S, Cehreli MC. The effect of current bleaching agents on the color of light-polymerized composites in vitro. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2003; 89(5): 474-478.

Cantürk NZ, Cantürk Z, Özbilim G. Protective effect of vitamin E on gastric mucosal injury in rats with biliary obstruction. *Can J Gastroenterol*. 2000; 14(6): 499-503.

Carrasco LD, Guerisoli MZ, Pécora JD, Fröner IC. Evaluation of dentin permeability after light activated internal dental bleaching. *Dental Traumatology*. 2007; 23: 30-34.

Carrilho E. Branqueamento dentário - suas aplicações.

Cavalli V, Arrais CAG, Giannini M, Ambrosano GMB. High-concentrated carbamide peroxide bleaching agents effects on enamel surface. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2004; 31: 155-159.

Cavalli V, Giannini M, Carvalho RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dental Materials*. 2004; 20: 733- 739.

Cavallini M. Estudo experimental comparativo entre lesões agudas da mucosa gástrica de ratos, induzidas pela indometacina e celecoxib e a citoprotecção com o uso de omeprazol e misoprazol. Tese de Doutorado. Biblioteca digital da Unicamp. 2002.

Chang XR, Peng L, Yi SX, Peng Y, Yan J. Association of high expression in rat gastric mucosal heat shock protein 70 induced by moxibustion pretreatment with protection against stress injury. *World Journal of Gastroenterology*. 2007; 13(32): 4355-4359.

Cherry DV, Bowers DE Jr, Thomas L, Redmond AF. Acute toxicological effects of ingested tooth whiteners in female rats. *J Dent Res*. 1993; 72(9): 1298-1303.

Christensen G. Why resin curing lights do not increase tooth lightening. *Status Report. CRA Newsletter*. 2000; 24/6: 3.

Christensen GJ. Are veneers conservative treatment? *JADA*. 2006; 137: 1721-1723.

Çobankara FK, Ünlü N, Altinöz HC, Özer F. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentin. *International Dental Journal*. 2004; 54: 211-218.

Collet AM, Palmieri M, Molinari B, Schwint AE, Itoiz ME. Experimental study to test the potential tumor promotion effect of a tooth bleaching agent. *Acta Odontol Latinoam*. 2001; 14(1-2): 30-34.

Collins LZ, Maggio B, Liebman J, Blanck M, Lefort S, Waterfield P, Littlewood D, Naeeni M, Schäfer F. Clinical evaluation of a novel whitening gel, containing 6% hydrogen peroxide and a standart fluoride toothpaste. *Journal of Dentistry*. 2004; 32: 13-17.

Council of European Dentists. Implementation of SCCP opinion on tooth whitening products. *CED Resolution Novembro 2008*

Craig RG, Powers JM. *Restorative Dental Materials*. 11th Edition. 2002.. St Louis. Pp: 142-148.

Cronin MJ, Charles CA, Zhao Q, Dembling WZ. Comparison of two over-the-counter tooth whitening products using a novel system. *Compendium*. 2005; 26(2): 140-148.

Cubbon T, Ore D. Hard tissue and home tooth whiteners. *CDS Review*. 1991; 85(5): 32-35.

Curtis JW, Dickinson GL, Downey MC, Russel CM, Haywood VB, Myers ML, Johnson MH. Assessing the effects of 10 percent carbamide peroxide on oral soft tissues. *J Am Dent Assoc* 1996; 127: 1218-1223.

Cvitko E, Denehy GE, Swift EJ, Pires JAF. Bond strength of composite resin to enamel bleached with carbamide peroxide. *J Esthet Dent* 1991; 13:100-102.

Dahl JE, Becher R. Acute toxicity of carbamide peroxide and a commercially available tooth-bleaching agent in rats. *Journal of Dental Research*. 1995; 74: 710-714.

Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching – a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(4) 292-304.

Dale BG, Aschheim KW. Branqueadores e agentes relacionados in “Odontología Estética. Una aproximación clínica a las técnicas y los materiales”. Madrid. Mosby. Segunda Edición. 2002; Cap. 13: 247-266.

Date RF, Yue J, Barlow AP, Bellamy PG, Prendergast MJ, Gerlach RW. Delivery, substantivity and clinical response of a direct application percarbonate tooth whitening film. *American Journal of Dentistry*. 2003; 16: 3B-8B.

Deliperi S, Bardwell DN, Papathanasiou A. Clinical evaluation of a combined in-office and take-home bleaching system. *JADA*. 2004; 135: 628-634.

Della Bona A, Baghi N, Berry TG, Godwin JM. In vitro bond strength testing of bleached dentine. J Dent Res 1992; 71:659.

DeSesso JM, Lavin AL; Hsia SM, Mavis RD. Assessment of the carcinogenicity associated with oral exposures to hydrogen peroxide. Food and Chemical Toxicology. 2000; 38(11): 1021-1041.

Donly KJ. The adolescent patient: special whitening challenges. Compendium. 2003; 24(4A): 390-396.

Donoghue AM, Ferguson MM. Superficial copper staining of teeth in a brass foundry worker. Occup Med (Oxf) 1996; 46(3): 233-234.

Dostalova T, Jelinkova H, Housova D, Sulc J, Nemecek M, Miyagi M, Junior AB, Zanin F. Diode Laser-Activated bleaching. Braz Dent Journal. 2004; 15: S13-S18.

Dunn JR. Dentis-prescribed home bleaching: current status. Compend Contin Educ Dent. 1998; 9(8): 760-764.

Edwards M, Zhou X, Bowman LA, Campolongo K, Gerlach RW. Placebo-controlled clinical trial evaluating 6% hydrogen peroxide whitening strips. Research presented at the 81ST General Session of the IARD. Junho 25-28. 2003

Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Thirty-five percent carbamide peroxide application causes *in vitro* demineralization of enamel. Dental Materials. 2006; 1005: 1-5.

Efeoglu N, Wood D, Efeoglu C. Microcomputerised Tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. Journal of Dentistry. 2005; 33: 561-567.

Elay BM. Antibacterial agents in control of supragingival plaque - a review. Br Dent J

1999; 186: 286-296.

Fasanaro TS. Bleaching teeth: history, chemicals and methods used for common tooth discolorations. *J Esthet Dent* 1992; 4(3): 71-78.

Ferrari M, Kugel G, Cagidiaco MC, Barker ML, Gerlach RW. Clinical trial evaluating the peroxide concentration response of whitening strips over 28 days. *American Journal of Dentistry*. 2004; 17(4): 291-294.

Ferreira IA, Lopes GC, Vieira LCC, Araujo E. Effect of hydrogen-peroxide-based home bleaching agents on enamel hardness. *Braz J Oral Sci*. 2006; 5(18): 1090-1093.

Francischone LA, Consolaro A. Clareação dentária externa: importância e tipos de proteção da junção amelocimentária. *Clin Ortodon Dental Press*. 2005; 4(5): 88-98.

Freitas PM, Turssi SP, Hara AT, Serra MC. Monitoring of demineralized dentin microhardness throughout and after bleaching. *American Journal of Dentistry*. 2004; 17(5): 342-346.

Fugaro OJ, Fugaro JO, Matis B, Gregory RL, Cochran M, Mjör I. The dental pulp: inflammatory markers and vital bleaching. *American Journal of Dentistry*. 2005; 18(4): 229-232.

Gallagher A, Maggio B, Bowman J, Borden L., Mason S., Felix H.. Clinical study to compare two in-office (chairside) whitening systems. *The Journal of Clinical Dentistry*. 2002; 13(6): 219-224.

Gambarini G, Testarelli L, Dolci G. Clinical evaluation of a novel liquid tooth whitening gel. *American Journal of Dentistry*. 2003; 16: 147-151.

Gambarini G, Testarelli L, Luca MD, Dolci G. Efficacy and safety assessment of a new liquid tooth whitening gel containing 5,9% hydrogen peroxide. American Journal of dentistry. 2004; 17(2): 75-79.

Garber DA. Dentist-monitored bleaching: a discussion of combination and laser bleaching. J Am Dent Assoc Suppl. 1997; 128(4): 26S-30S.

Gerlach RW, Zhou X. Vital bleaching with whitening strips: summary of clinical research on effectiveness and tolerability. J Contemp Dent Pract 2001; 2(3): 001-016.

Gerlach RW, Gibb RD, Sagel PA. Initial color change and color retention with a hydrogen peroxide bleaching strip. American Journal of Dentistry. 2002; 15(1): 3-7.

Gerlach RW, Barker ML. Randomized clinical trial comparing overnight use of two self-directed peroxide tooth whiteners. American Journal of Dentistry. 2003; 16: 17B-21B.

Gerlach RW, Barker ML. Clinical response of three direct-to-consumer whitening products: strips, paint-on gel, and dentifrice. Compendium. 2003; 24(6): 458-470.

Gerlach RW, Zhou X, McMillan DA. Safety of vital tooth bleaching with 6% hydrogen peroxide whitening strips: evidence from 18 clinical trials. Research presented at the 81ST General Session of the IARD. Junho 25-28. 2003

Gerlach RW, Barker ML. Professional vital bleaching using a thin and concentrated peroxide gel on whitening strips: an integrated clinical summary. The Journal of Contemporary Dental Practice. 2004; 5(1): 001-017.

Gerlach RW, Sagel PA. Vital bleaching with a thin peroxide gel. The safety and efficacy of a professional-strength hydrogen peroxide whitening strip. JADA. 2004; 135: 98-100.

Gerlach RW, Tucker HL, Anastasia MK, Barker ML. Clinical trial comparing 2 hydrogen peroxide tooth whitening systems: strips vs pre-rinse. *Compendium*. 2005; 26(12): 874-878.

Godoy FG, Villalta P, Bartizek RD, Barker ML, Biesbrock AR. Tooth whitening effects of an experimental power whitening toothbrush relative to an 8.7% hydrogen peroxide paint-on gel control. *American Journal of Dentistry* 2004;17: 25A-30A.

Gökay O, Müjdeci A, Algin E. Peroxide penetration into the pulp from whitening strips.. *Journal of Endodontics*. 2004; 30(12): 887-889.

Goldstein RE, Garber DA. Complete dental bleaching, Chapter 1. Quintessence Publishing Company: Chicago. 1995: 1-23.

Goo DH, Kwon TY, Nam SH, Kim HJ, Kim KH, Kim YJ. The efficiency of 10% carbamide peroxide gel on dental enamel. *Dental Materials Journal*. 2004; 23(4): 522-527.

Greenwall L. Bleaching Techniques in Restorative Dentistry. London. Martin Dunitz. 2001.

Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent Res*. 1993; 72(5): 931-938.

Hasson H, Ismail AI, Neiva G. Home-based chemically-induced whitening of teeth in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006; 18(4).

Hasturk H, Nunn M, Warbington M, Dyke TEV. Efficacy of a fluoridated hydrogen peroxide-based mouthrinse for the treatment of gingivitis: a randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*. 2004; 75(1): 57-65.

Haywood VB, Heymann H. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int.* 1989; 20(3): 173-176.

Haywood VB. Nightguard Vital Bleaching, a history and products update: Part 1. *Esthet Dent Update* 1991b; 2(4) 63-66.

Haywood VB, Leonard RH, Nelson CF, Brunson WD. Effectiveness, side effects and long-term status of nightguard vital bleaching. *JADA* 1994; 125: 1219-1226.

Haywood VB. The current status of Nightguard Vital Bleaching. *Compend Contin Educ Dent.* 2000; 21(28): S18-S27.

Haywood VB. New bleaching considerations compared with at-home bleaching. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2003;15(3): 184-187.

Heller D, Skriber J, Lin LM. Effect of intracoronal bleaching on external cervical root resorption. *J Endodont* 1992; 18:145.

Heymann HO, Swift Jr EJ, Bayne SC, May Jr KN, Wilder Jr AD, Mann GB, Peterson CA. Clinical evaluation of two carbamide peroxide tooth-whitening agents. *Compendium.* 1998; 19(4): 359-376.

Hilgert LA, Néis ACC, Patrício AD, Maia HP, Andrada MAC, Edelhoff D. Clareamento de dente não-vital com a técnica *inside-outside*. *Clínica - International Journal of Brazilian Dentistry.* 2009; 5(1): 43-52.

Hosoya N, Honda K, Lino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. *Journal of Dentistry.* 2003; 31: 543-548.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Hydrogen Peroxide (Group 3). CAS n°. 7722-84-1. 1999; 71: 671.

IPCS. International Programme on Chemical Safety. Principles for modeling dose-response for the risk assessment of chemicals. 1999. Environmental Health Criteria 239. World Health Organization.

IPCS/JECFA. International Programme on Chemical Safety and Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Principles for safety assessment of food additives and contaminants in food. 1987. Environment Health Criteria 70. Geneva: World Health Organization.

Joiner A, Thakker G. In vitro evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product. *Journal of Dentistry*. 2004; 32: 19-25.

Joiner A, Thakker G, Cooper Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro. *Journal of Dentistry*. 2004; 32: 27-34.

Karpinia KA, Magnusson I, Barker ML, Gerlach RW. Placebo-controlled clinical trial of a 19% sodium percarbonate whitening film: initial and sustained whitening. *American Journal of Dentistry*. 2003; 16: 12B-16B.

Kidd EAM, Joyston-Bechal S, Beighton D. Marginal ditching and staining as a predictor of secondary caries around amalgam restorations: a clinical and microbiological study. *J Dent Res* 1995; 74(5): 1206-1211.

Kim JH, Lee YK, Lim BS, Rhee SH, Yang HC. Effect of tooth-whitening strips and films on changes in color and surface roughness of resin composites. *Clin Oral Invest*. 2004; 8: 118-122.

Kleter GA. Discoloration of dental carious lesions (a review). Arch Oral Biol Ang 1998; 43(8): 629-632.

Konjevoda P, Stambuk N, Vikic-Topic D, Boban-Blagaic A, Vikic-Topic S, Mrljak V, Pavan J, Ramadan P, Bidin Z. Protective effects of met-enkephalin on alcohol induced gastric lesions. Croatica Chemica Acta. 2000; 73(4): 1111-1121.

Koulaouzidou E, Lambrianidis T, Beltes P, Lyroudia K, Papadopoulos C. Role of cemento-enamel junction on the radicular penetration of 30% hydrogen peroxide during intracoronary bleaching in vitro. Endodont Dent Traumatol 1996; 12:146.

Kraigher A, Van der Veen MH, Potocnik I. Caries occurrence in rats after bleaching with 10% carbamide peroxide in vivo. Caries Research 2006; 40: 77-80.

Kugel G, Kastali S. Tooth-whitening efficacy and safety: a randomized and controlled clinical trial. Compendium 2000; 21(29): S16-S21.

Kugel G, Papathanasiou A, Williams AJ, Anderson C, Ferreira S. Clinical evaluation of chemical and light-activated tooth whitening systems. Compendium. 2006; 27(1): 54-62.

Kum KY, Lim KR, Lee CY, Park KH, Safavi KE, Fouad AF, Spangberg LS. Effects of removing residual peroxide and other oxygen radicals on the shear bond strength and failure modes at resin-tooth interface after tooth bleaching. American Journal of Dentistry. 2003; 17(4): 267-270.

Kwon YH, Kwon TY, Kim HI, Kim KH. The effect of 30% hydrogen peroxide on the color of composites. J Biomed Mater Res. 2003; 66B: 306-310.

Lambrecht N, Trautmann M, Korolkiewicz R, Liskay M, Peskar BM. Role of eicosanoids, nitric oxide, and afferent neurons in antacid induced protection in the rat stomach. *Gut*. 1993; 34: 329-337.

Lee DH, Lim BS, Lee YK, Yang HC. Effects of hydrogen peroxide (H₂O₂) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. *Cell Biology and Toxicology* 2006; 22; 39-46.

Leonard RH, Haywood VB, Eagle JC, Garland GE, Caplan Dj, Mathews KP, Tart ND. Nightguard Vital Bleaching of tetracycline - stained teeth: 54 months post treatment. *J Esthet Dent* 1999; 11(5): 265-277.

Leonard RH. Nightguard Vital Bleaching: dark stains and long-term results. *Compend Contin Educ Dent* 2000; 21(28): S18-S27.

Leonard RH Jr, Haywood VB, Caplan DJ, Tart ND. Nightguard vital bleaching of tetracycline-stained teeth: 90 months post treatment. *Journal Esthetic Restorative Dentistry*. 2003; 15(3): 142-153.

Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2004; 92(4): 337-342.

Li Y. Biological properties of peroxide-containing tooth whiteners. *Food Chem Toxicol*. 1996; 34(7): 887-904.

Li Y. Tooth bleaching using peroxide-containing agents: current status of safety issues. *Compend Contin Educ Dent*. 1998; 19(8): 783-790.

Li Y. Peroxide-containing tooth whiteners: an update on safety. *Compend Contin Educ Dent Suppl.* 2000; 28: S4-9.

Li Y. The safety of peroxide-containing at-home tooth whiteners. *Compendium* 2003; 24(4A): 384-389.

Liebenberg WH. Intracoronal lightening of discoloured pulpless teeth: a modified walking bleach technique. *Quintessence Int* 1997; 28:771-777.

Luk K, Tam L, Hubert M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. *JADA.* 2004; 135: 194-201.

Mahony C, Barker ML, Engel TN, Walden GL. Peroxide degradation kinetics of a direct application percarbonate bleaching film. *American Journal of Dentistry.* 2003; 16: 9B-11B.

Mahony C, Felter SP, McMillan DA. An exposure-based risk assessment approach to confirm the safety of hydrogen peroxide for use in home tooth bleaching. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 2006; 44(2): 75-82.

Mair L, Joiner A. The measurement of degradation and wear of three glass ionomers following peroxide bleaching. *Journal of Dentistry.* 2004; 32: 41-45.

Marson FC, Bruschi PA. Influência do tempo diário de utilização do gel no clareamento caseiro. *Clínica - International Journal of Brazilian Dentistry.* 2009; 5(1): 79-84.

Matis BA, Hamdan YS, Cochran MA, Eckert GJ. A clinical evaluation of a bleaching agent used with and without reservoirs. *Operative Dentistry* 2002; 27: 5-11.

Matis BA. Tray whitening: what the evidence shows. *Compendium*. 2003; 24(4A): 354-362.

Matis BA, Wang Y, Eckert GJ, Cochran MA, Jiang T. Extended Bleaching of tetracycline-stained teeth: a 5-year study. *Operative Dentistry*. 2006; 31(6): 643-651.

McGukin RS, Thurmond BA, Osovitz S. In vitro enamel shear bond strengths following vital bleaching. *J Dent Res* 1991; 70:377.

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(4): 235-242.

Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. *Quintessence International*. 2008; 39(8): 645-659.

Mitsuyama K, Tsuruta O, Matsui Y, Harada K, Tomiyasu N, Suzuki A, Takaki K, Masuda J, Handa K, Satoh Y, Bennett BL, Toyonaga A, Sata M. Activation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) signalling in experimentally induced gastric lesions in rats. *Clin Exp Immunol*. 2006; 143(1): 24-29.

Miyazaki M, Sato H, Sato T, Moore BK, Platt JA. Effect of a whitening agent application on enamel bond strength of self-etching primer systems. *American Journal of Dentistry*. 2003; 17(3): 151-155.

Mokhlis GR, Matis BA, Cochran MA, Eckert GJ. A clinical evaluation of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening agents during daytime use. *J Am Dent Assoc*. 2000; 131: 1269-1277.

Montalvan E, Vaidyanathan TK, Shey Z, Janal MN, Caceda JH. The shear bond strength of acetone and ethanol-based bonding agents to bleached teeth. *Pediatric Dentistry*. 2006; 28(6): 531-536.

Morris CDN. Tooth Whiteners – the legal position. *British Dental Journal*. 2003; 194(7): 375-376.

Moss SJ. Carbamide and food - a review of the literature. *FDI World* 1999; 3:9-14.

Mujdeci A, Gokay O. Effect of bleaching agents on the microhardness of tooth-colored restorative materials. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2006; 95(4): 286-289.

Muñoz RH, Ruíz CM, Martínez OV. Gastric mucosal cell proliferation in ethanol-induced chronic mucosal injury is related to oxidative stress and lipid peroxidation in rats. *Laboratory Investigation*. 2000; 80: 1161-1169.

Munro IC, Williams GM, Heymann HO, Kroes R. Use of hydrogen peroxide-based tooth whitening products and its relationship to oral cancer. *J Esthet Restor Dent*. 2006; 18(3): 119-125.

Myers ML, Browning WD, Downey MC, Hackman ST. Clinical evaluation of a 3% hydrogen peroxide tooth-whitening gel. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2003; 15(1): 50-56.

Naik S, Tredwin CJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching): review of safety in relation to possible carcinogenesis. *Oral Oncology*. 2006; 42(7): 668-674.

Navia JM. Euthanasia and Necropsy procedures and tissue sampling. *Em: Animals models in dental research*. The University of Alabama Press.

Newman SM, Bottone PW. Tray-forming technique for dentist-supervised home bleaching. *Quintessence International*. 1995; 26(7): 447-453.

Niedeman R, Tantrapol MC, Slinin P, et al. Effectiveness of dentist-prescribed, home-applied tooth whitening. A meta analysis. *J Contemp Dent Pract*. 2000. 4(1): 20-36.

Oliveira LD, Carvalho CAT, Hilgert E, Bondioli IR, Araújo MAM, Valera MC. Sealing evaluation of the cervical base in intracoronar bleaching. *Dental Traumatology*. 2003; 19: 309-313.

Oliveira R, Leme AFP, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. 2005; 16(2): 103-106.

Palitzsch KD, Brain JD, Bynum TE, Szabo S. Lung damage aggravates gastric mucosal lesions induced by ethanol in the rat. *Digestion*. 1995; 56(3): 204-210.

Papathanasiou A, Kastali S, Perry RD, Kugel G. Clinical evaluation of a 35% hydrogen peroxide in-office whitening system. *Compendium*. 2002; 23(4): 335-348.

Park HJ, Know TY, Nam SH, Kim HJ, Kim KH. Changes in bovine enamel after treatment with a 30% hydrogen peroxide bleaching agent. *Dental Materials Journal*. 2004; 23(4): 517-521.

Pass D, Freeth G. The Rat – Anzccart News. *Animal Resources Centre*. 1993; 6(4): 1-4.

Polydorou O, Mönning JS, Hellwig E, Auschill TM. Effect of in-office tooth bleaching on the microhardness of six dental esthetic restorative materials. *Dental Materials*. 2006: 1-6.

Poyser NJ, Kelleher MGD, Briggs PFA. Managing discoloured non-vital teeth: the inside/outside bleaching technique. *Dental Update*. 2004; 31: 204-214.

Pretty IA, Edgar WN, Higham SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralisation. *British Dental Journal*. 2005; 198(5): 285-290.

Pretty IA, Brunton P, Aminian A, Davies RM, Ellwood RP. Vital tooth bleaching in dental practice:3. Biological, dental and legal issues. *Dent Update*. 2006; 33(7): 422-432.

Price RBT, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc*. 2000; 66:421-426.

Pugh G, Zaidel L, Lin N, Stranick M, Bagley D. High levels of hydrogen peroxide in overnight tooth-whitening formulas: effects on enamel and pulp. *Journal of Esthetics and Restorative Dentistry*. 2005; 17(1): 40-47.

Redmond AF, Cherry DV, Bowers DE Jr. Acute illness and recovery in adult female rats following ingestion of a tooth whitener containing 6% hydrogen peroxide. *Am J Dent*. 1997; 10(6): 268-271.

Rejniuk VL, Schafer TV, Ivnitisky JJ. Ammonia potentiates the lethal effect of ethanol on rats. *Bull Exp Biol Med*. 2008; 145(6): 741-743.

Riehl H, Freitas CA. Determinação da variação do pH de várias substâncias usadas intracoronariamente para a restauração da cor (clareamento) da coroa dentária. *Faculdade de Odontologia de Lins/UNIMEO* 2001; 13(1): 45-51.

Rodrigues JA, Marchi GM, Ambrosano GMB, Heymann HO, Pimenta LA. Microhardness evaluation of in situ vital bleaching on human dental enamel using a novel study design. *Dental Materials*. 2005; 21: 1059-1067.

Rodriguez JPL, Guillen AJP, Hernandez FH, Maldonado RB, Marin NP. Effectiveness of treatment with carbamide peroxide and hydrogen peroxide in subjects affected by dental fluorosis: a clinical trial. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2003; 28(1): 63-67.

Rosentritt M , Lang R, Plein T, Behr M, Handel G. Discoloration of restorative materials after bleaching application. *Quintessence International*. 2005; 36(1): 33-39.

Rotstein I, Friedman S, Mor C, Katznelson J, Sommer M, Bab I. Histological characterization of bleaching-induced external root resorption in dogs. *J Endodont* 1991; 17:436.

Rotstein I, Torek Y, Lewinstein I. Effect of bleaching time and temperature on the radicular penetration of hydrogen peroxide. *Endodont Dent Traumatol* 1991; 7:196.

Rotstein I, Torek Y, Misgav R. Effect of cementum defects on radicular penetration of 30% H₂O₂ during intracoronary bleaching. *J Endodont* 1991; 17:230.

Rotstein I, Lehr Z, Gedalia I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. *Journal of Endodontics*. 1992; 18(6): 290-293.

Rotstein I, Wesselink PR, Bab I. Catalase protection against hydrogen peroxide-induced injury in rat oral mucosa. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol*. 1993; 75: 744.

Rotstein I. Bleaching non vital and vital discolored teeth. In: Cohen S, Berns RC. *Pathways of the pulp*. Mosby. 7th edicion. 1998. St Louis. Pp 674.

Rotstein I, Avron Y, Shemesh H, Dogan H, Mor C, Steinberg D. Factors affecting mercury release from dental amalgam exposed to carbamide peroxide bleaching agent. *American Journal of Dentistry*. 2004; 17(5): 347-350.

SCCP Scientific Committee on Consumer Products. Guidance document on epidemiological and clinical studies on tooth whitening products. 2006. European Commission – Health & Consumer Protection Directorate-General.

SCCNFP. Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products. Hydrogen peroxide and hydrogen peroxide releasing substances in oral health products. 1999.

Schemehorn B, González-Cabezas C, Joiner A. A SEM evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on dental materials in vitro. *Journal of Dentistry*. 2004; 32: 35-39.

Settembrini L, Gultz J, Kaim J, Scherer W. A technique for bleaching nonvital teeth: inside/outside bleaching. *J Am Dent Assoc* 1997; 128:1283-1284.

Shearer AC. External bleaching of teeth. *Dental Update* 1991; 18(7): 289-291.

Sherwood PV, Wibawa JID, Atherton JC, Jordan N, Shaw DJ, Spiller RC. Impact of acid secretion, gastritis, and mucus thickness on gastric transfer of antibiotics in rats. *Gut*. 2002; 51(4): 490-495.

Shethri SA, Matis BA, Cochran MA, Zekonis R, Stropes M. A clinical evaluation of two in-office bleaching products. *Operative Dentistry*. 2003; 28(5): 488-495.

Shinohara MS, Rodrigues JA, Pimenta LAF. In vitro microleakage of composite restorations after nonvital bleaching. *Quintessence International*. 2001; 32(5): 413-417.

Shinohara MS, Peris AR, Pimenta LAF, Ambrosano GMB. Shear bond strength evaluation of composite resin on enamel and dentin after nonvital bleaching. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2005; 17(1): 22-29.

Spalding M, Taveira LAA, Assis GF. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide: alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2003; 15(3): 154-165.

Steinberg D, Blank O, Rotstein I. Influence of dental biofilm on release of mercury from amalgam exposed to carbamide peroxide. *J Biomed Mater Res* . 2003; 67B: 627-631.

Stindt DJ, Quenette L. An overview of glyoxide liquid in control and prevention of dental disease. *Compend Contin Educ Dent* 1989; 10(9): 514-519.

Sulieman M, Addy M, MacDonald E, Rees JS. The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening: an in vitro study. *Journal of Dentistry*. 2004; 32: 295-299.

Sulieman M, Addy M, Macdonald, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentin. *Journal of Dentistry*. 2004; 32: 581-590.

Sulieman M, Addy M, Rees JS. Surface and intra-pulpal temperature rises during tooth bleaching: a study *in vitro*. *British Dental Journal*. 2005; 199(1): 37-40.

Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. The bleaching depth of 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. *Journal of Dentistry*. 2005; 33: 33-40.

Sulieman M, MacDonald E, Rees JS, Addy M. Comparison of three in-office bleaching systems based on 35% hydrogen peroxide with different light activators. *American Journal of Dentistry*. 2005; 18(3): 194-196.

Sun G. The role of lasers in cosmetic dentistry. *Dent Clin North Am*. 2000; 44:831-850.

Swift E. Causes, prevention, and treatment of dentin hypersensitivity. *Compendium*. 2004; 25(2): 95-109.

Tam L. The safety of home bleaching techniques. *J Can Dent Assoc* 1999; 65(8): 453-455.

Teixeira ECN, Hara AT, Serra MC. Use of 37% carbamide peroxide in the walking bleach technique: a case report. *Quintessence International*. 2003; 35(2): 97-102.

Teixeira ECN, Hara AT, Turssi CP, Serra MC. Effect of non-vital tooth bleaching on microleakage of coronal access restorations. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2003; 30: 1123-1127.

Teixeira ECN, Ritter AV, Thompson JY, Leonard Jr RH, Swift Jr EJ. Effect of tray-based and trayless tooth whitening systems on microhardness of enamel surface and subsurface. *American Journal of Dentistry*. 2004; 17(6): 433-436.

Timpawat S, Nipattamanon C, Kijssamanmith K, Messer HH. Effect of bleaching agents on bonding to pulp chamber dentine. *International Endodontic Journal*. 2005; 38: 211-217.

Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Chernecky R, Adibfar A. Scanning electron microscopy observations on the penetration and structure of resin tags in bleached and unbleached bovine enamel. *J Endodont* 1991; 17:71.

Touati B, Miara P, Nathanson D. Treatment of tooth discoloration in " Esthetic Dentistry and ceramic restorations. London. Martin Dunitz. First Edicion. 1999; Chapter 6: 81-115.

Tredwin CJ, Scully C, Bagan-Sebastian JV. Drug-induced disorders of teeth. *J Dent Res* 2005; 84(7): 596-602.

Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: a review of adverse effects and safety issues. *Br Dent*. 2006; 200(7): 371-376.

Tse SC, Lynch E, Blake DR, Williams DM. Is home bleaching gel citotoxic? *J Esthet Dent* 1991; 3(5): 162-168.

Turker SB, Biskin T. Effect of three bleaching agents on the surface properties of three different esthetic restorative materials. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2003; 89(5): 466-473.

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

Ulukapi H, Benderli Y, Ulukapi I. Effect of pre-and postoperative bleaching on marginal leakage of amalgam and composite restorations. *Quintessence International*. 2003; 34(7): 505-508.

Ünlü N, Çobankara FK, Altinöz C, Özer F. Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *Journal of Rehabilitation*. 2004; 31: 57-61.

Vieira D, Vieira D, Fukuchi M, Kaufman T. Agentes clareadores e mecanismo de ação. Em: *Clareamento dental*. Santos Livraria Editora 2003. S. Paulo. pp 14-21.

Villalta P, Lu H, Okte Z, Garcia-Godoy F, Powers JM. Effects of staining and bleaching on color change of dental composite resins. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2006; 95(2): 137-142.

Walsh TF, Rawlinson A, Wildgoose D, Marlow I, Haywood J, Ward JM. Clinical evaluation of the stain removing ability of a whitening dentifrice and stain controlling

system. *Journal of Dentistry*. 2005; 33: 413-418.

Wang LJ, Chen SJ, Chen Z, Cai JT, Si JM. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2006; 7(8): 634-640.

Watts A, Addy M. Tooth discoloration and staining; a review of the literature. *Br Dent J*. 2001; 190: 309-315.

Weiger R, Kuhn A, Löst C. In vitro comparison of various types of sodium perborate used for intracoronary bleaching. *J Endodont* 1994; 20:338.

Weiner ML, Freeman C, Trochimowicz H, Gerlache J, Jacobi S, Malinverno G, Mayr W, Regnier JF. 13-week drinking water toxicity study of hydrogen peroxide with 6-week recovery period in catalase-deficient mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2000; 38(7): 607-615.

White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Goetz H. Impact of crest night effects bleaching gel on dental enamel, dentin and key restorative materials. In vitro studies. *American Journal of Dentistry*. 2003; 16: 22B-27B.

White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Götz H. Effects of crest whitestrips bleaching on subsurface microhardness and ultrastructure of tooth enamel and coronal dentin. *American Journal of Dentistry*. 2004; 17(1): 5-11.

Wiegand A, Vollmer D, Foitzik M, Attin R, Attin T. Efficacy of different whitening modalities on bovine enamel and dentin. *Clin Oral Invest*. 2005. 9: 91-97.

Xiang Z, Si JM, Huang HD. Chronic gastritis rat model and role of inducing factors. *World J Gastroenterol*. 2004; 10(21): 3212-3214.

Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. *Dental Materials*. 2007; 23: 243-250.

Zouain-Ferreira SL, Zouain-Ferreira TR, da Silva CR, Cervantes Dias KR, Caldeira-de-Araújo A, Bernardo-Filho M. Radiation induced-like effects of four home bleaching agents used for tooth whitening: effects on bacterial cultures with different capabilities of repairing deoxyribonucleic acid (DNA) damage. *Cell Mol Biol*. 2002; 48(%): 521-524.

7 - APÊNDICES

APÊNDICE 1 - CONSTITUINTES DOS PRODUTOS DE BRANQUEAMENTO DE TERCEIRA GERAÇÃO

Constituintes dos produtos de branqueamento de terceira geração
Peróxido de carbamida
Peróxido de hidrogénio
Hidróxido de sódio
Perborato de sódio e outros produtos
Agente espessante - carbopol ou polyx
Ureia
Veículo - glicerina, dentífrico, glycol

APÊNDICE 2 - EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA PARA TERAPÊUTICA DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO

Princípio activo	Marca comercial
Peróxido de carbamida a 10%	Colgate® Platinum Professional Whitening System™ (Colgate Oral Pharmaceutical), Nite White® Classic (Discus Dental), Opalescence® (Ultradent)
Peróxido de carbamida a 10% e 15%	Nupro® White Gold® (Dentsply)
Peróxido de carbamida a 10%, 15% e 20%	Opalescence® (Ultradent) , Opalescence F® (Ultradent) , Opalescence PF® (Ultradent)
Peróxido de carbamida a 12%, 16%, 22% e 30%	Rembrandt Xtra Comfort® (Den-Mat)
Peróxido de carbamida a 35%	Opalescence Quick® (Ultradent), Quick Star® (Den-Mat)

APÊNDICE 3 - EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES CONTENDO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO PARA TERAPÊUTICA DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO

Princípio activo	Marca comercial
Peróxido de hidrogénio a 4,5%	Perfecta Black Out Resin® (Premier Dental)
Peróxido de hidrogénio a 6%	Colgate® Visible White™ (Colgate Oral Pharmaceutical), Perfect Ultra® (Premier Dental)
Peróxido de hidrogénio a 7,5% e 9,5%	Day White® Excel 3 (Discus Dental), Colgate® Visible White™ (Colgate Oral Pharmaceutical)
Peróxido de hidrogénio a 15%	BriteSmile® Professional Tooth Whitening System (Brite Smile), Nupro® White Gold® (Dentsply)
Peróxido de hidrogénio a 25%-27%	Zoom™ Advance Power, 25% (Discus Dental); Niveous™, 27% (Shofu)
Peróxido de hidrogénio a 30%-35%	Hi Lite™ 35% (Shofu Dental), Illuminé™, 30% (Dentsply); Opalescence® Endo, 35% (Ultradent); Opalescence Xtra®, 35% (Ultradent); entre outros
Peróxido de hidrogénio a 38%	Opalescence® Xtra Boost™ (Ultradent)

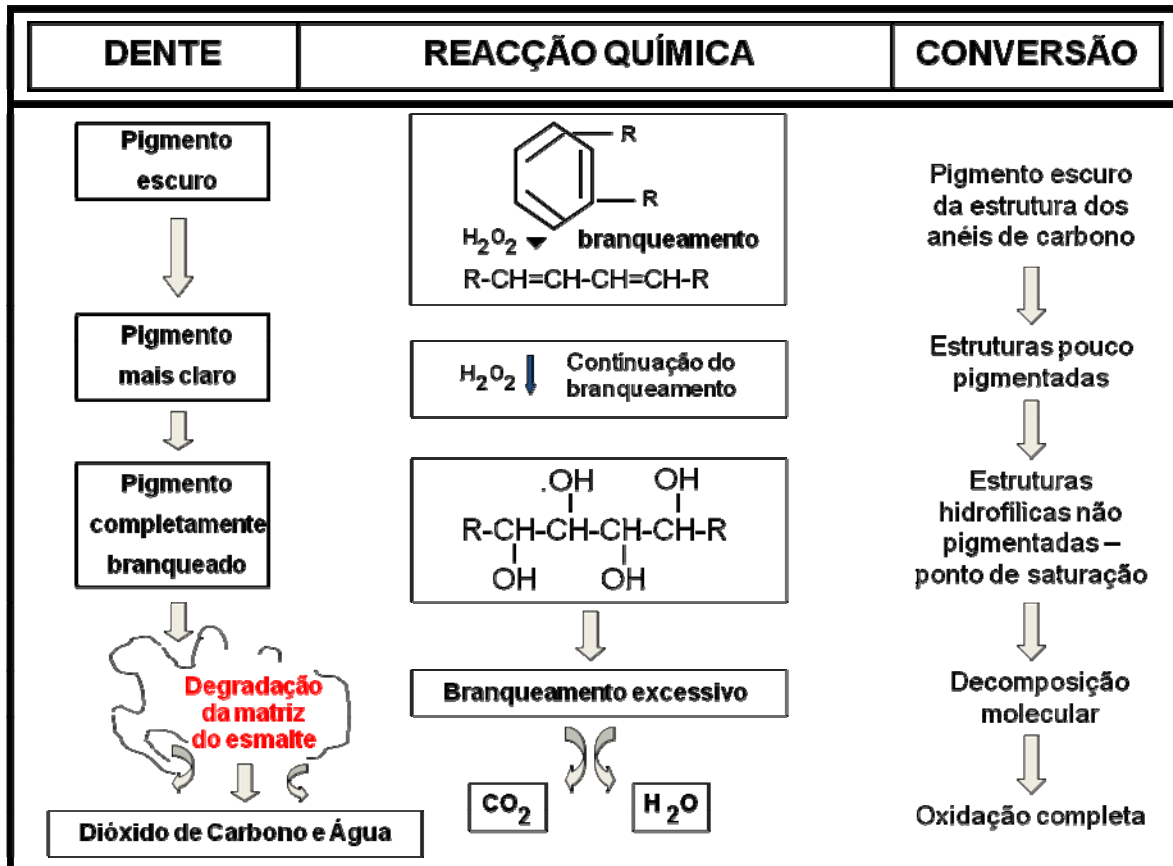
APÊNDICE 4 - EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA OU PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO PARA TRATAMENTOS DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO

Princípio activo	Marca comercial
Peróxido de hidrogénio a 1,5%	Rembrandt Plus® Peroxide Whitening Rinse (Den-Mat)
Peróxido de hidrogénio a 3%	Natural White® 5- Minute Kit™, Natural White® Pro™, Rapid White®
Peróxido de hidrogénio a 4%	Quick White™ Portable Whitening System
Peróxido de hidrogénio a 6%	Crest Whitestrips® (Procter & Gamble)
Peróxido de hidrogénio a 6,3%	Colgate® Simply White™ Clear Whitening Gel (Colgate Oral Pharmaceutical)
Peróxido de hidrogénio a 8,7%	Colgate® Simply White™ Night Clear Whitening Gel (Colgate Oral Pharmaceutical)
Peróxido de hidrogénio a 9%	Power Brush Whitening Gel™, Rembrandt Plus® Gel and Toothpaste (Den-Mat)
Peróxido de carbamida a 18%	Colgate® Simply White (Colgate Oral Pharmaceutical)

APÊNDICE 5 - EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES NÃO CONTENDO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO PARA TRATAMENTOS DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO

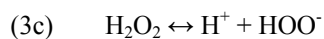
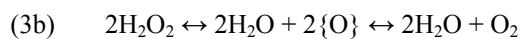
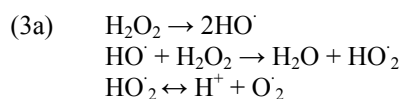
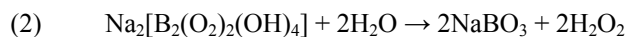
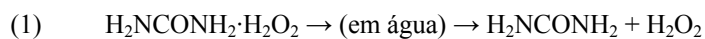
Princípio activo	Marca comercial
Hidroxilite	Hi Lite™ 2, Shofu Dental Corporation; Vitint System®, Dental Partners
Perborato de sódio	Acofarma; Vaz Pereira SA; entre outros laboratórios

APÊNDICE 6 - REACÇÕES QUÍMICAS DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO



(CARRILHO, 2002)

APÊNDICE 7 - EQUAÇÕES QUÍMICAS DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DOS DIVERSOS TIPOS DE PRODUTOS DE BRANQUEAMENTO



(Formação do peróxido de hidrogénio a partir do peróxido de carbamida (Equação 1) e do perborato de sódio (equação 2). O peróxido de hidrogénio forma radicais livres, como o hidroxil e perhidroxil, e aniões superóxidos (equação 3a), reage com moléculas de oxigénio que são instáveis e se transformam em oxigénio (equação 3b), e aniões de peróxido de hidrogénio (equação 3c) (Dahl *et al*, 2003))

APÊNDICE 8 – INSTRUÇÕES PARA O DOENTE DO PRODUTO DE BRANQUEAMENTO COLGATE® “VISIBLE WHITE”™ (KIT COMERCIAL)

Use a moldeira durante 30 minutos, duas vezes por dia ou siga as instruções do seu dentista.

Passo 1 – Escove cuidadosamente os seus dentes usando um dentífrico com flúor, como o dentífrico Colgate Total (figura 1).

Passo 2 – Verta uma gota de Colgate Visible White na parte da frente de cada impressão dos dentes que necessitam de branqueamento (figura 2). Não encha em demasia. Verta apenas a quantidade de gel necessária para cobrir as superfícies frontais dos seus dentes.

Passo 3 – Coloque na sua boca a moldeira. Pressione suavemente a moldeira com os seus dedos, de modo a que a moldeira assente com firmeza sobre os dentes. (figura 3)

Passo 4 – Limpe qualquer eventual excesso de gel branqueador com o seu dedo ou com a escova de dentes, assegurando-se de que removeu todo o gel das suas gengivas ou da linha da gengiva

Passo 5 – Use a moldeira cheia durante 30 minutos, ou siga as instruções do seu dentista.

Passo 6 – Quando o tratamento estiver concluído, remova a moldeira. Escove os seus dentes com uma escova de dentes molhada de modo a remover qualquer resto de gel branqueador que tenha ficado. Lave a moldeira debaixo de água, com a ajuda de uma escova de dentes molhada para remover qualquer excesso de gel branqueador (figura 5). Entre os tratamentos, guarde a moldeira na caixa fornecida para o efeito.

• Repita os passos 1 até 6 em cada tratamento prescrito pelo seu dentista.

• Se sentir desconforto devido a sensibilidade, pergunte ao seu dentista por um tratamento que ajude a reduzir a sensibilidade. Como sempre, esclareça todas as questões com o seu dentista.

A FAZER

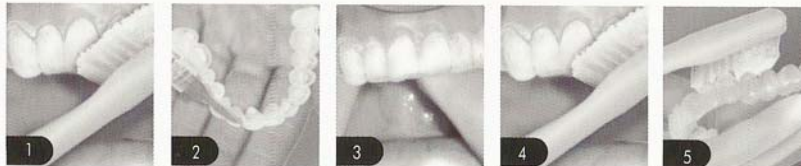
- Procure não comer nem beber durante o tratamento e por trinta minutos após o mesmo.
 - Evite o café, as colas, o vinho tinto e o tabaco, durante o tratamento.
 - Marque consultas conforme combinado com o seu profissional dentário. Se tiver quaisquer dúvidas durante o seu tratamento, por favor, contacte o seu dentista.
 - Guarde à temperatura ambiente. Evite exposições prolongadas acima dos 32° C
 - Use apenas sob supervisão de um dentista diplomado.
- A supervisão de um adulto é recomendada para pacientes com idades compreendidas entre os 12 e os 18 anos.
- Consulte e siga as instruções do seu dentista antes da utilização do produto.
 - Cuidados específicos devem ser tomados em casos de sensibilidade dentária, gengivas inflamadas, restaurações defeituosas, gengivite ou outros problemas gengivais, lesões orais existentes ou hábitos tabagicos e/ou de consumo de álcool
 - Siga todas as instruções de utilização do produto fornecidas pelo seu dentista, incluindo a duração e frequência.

- Não utilizar antes ou imediatamente após uma restauração estética.
- Se sentir sensibilidade dentária ou irritação gengival, interrompa a utilização imediatamente e consulte o seu dentista.
- Se sentir algum desconforto, interrompa a utilização e consulte o seu dentista.
- Manter fora do alcance e da vista das crianças
- Não deve ser usado em crianças com idade inferior a 12 anos
- Contêm 6 % de peróxido de hidrogénio ou equivalente
- Evitar o contacto com os olhos
- Em caso de contacto com os olhos lavar imediata e abundantemente com água

A NÃO FAZER

Não use se estiver grávida ou se estiver a amamentar. Não congele.

Outras notas – Alguns pacientes sentem desconforto ou sensibilidade que normalmente desaparece no espaço de um a três dias depois de o tratamento ter sido interrompido. Se tem sensibilidade, consulte o seu dentista. Pode também ser recomendável que faça o seu tratamento de dois em dois ou de três em três dias.



APÊNDICE 9 – INSTRUÇÕES PARA O MÉDICO DENTISTA DO PRODUTO DE BRANQUEAMENTO COLGATE® “VISIBLE WHITE”™ (KIT COMERCIAL)



Sistema Profissional de Branqueamento Dentário - Instruções para o dentista

Descrição:

- Colgate® Visible White™ é um sistema de branqueamento dentário de aplicação profissional, especialmente formulado para eliminar manchas dos dentes causadas pelos alimentos, pelo tabaco ou por outras substâncias pigmentantes. Este gel de alta viscosidade, transparente e com bom sabor está disponível em dosagens de 6% de peróxido de hidrogénio (pH = 6,3).
- Colgate Visible White usa-se como branqueador dentário cosmético em pacientes cuja saúde oral é normal. Ao recomendar o tratamento, avalie primeiro a saúde oral do paciente e discuta com ele o nível de branqueamento desejado. Informe o paciente de que o branqueamento será maior ou menor consoante o tipo de manchas. Advirta o paciente para que as obturações com compósito e as reconstruções em porcelana ou cerâmica não serão branqueadas nem o seu tom alterado e que, portanto, podem não condizer com os dentes branqueados.
- Colgate Visible White deverá utilizar-se antes da aplicação de compósitos, facetas e / ou coroas ou pontes. Esta medida permitirá ajustar adequadamente estes tratamentos aos novos tons mais claros dos dentes, conseguidos com o branqueamento cosmético. É recomendável esperar, pelo menos, duas semanas a seguir ao tratamento, para garantir a estabilização do tom e a máxima retenção.

Informações gerais

Deve dar-se a máxima atenção à concepção da moldeira, devido às características do Colgate Visible White: viscoso, de libertação controlada. Para evitar ou reduzir a irritação, é aconselhável restringir o contacto do peróxido à superfície dos dentes e não deixar que o gel se espalhe pelos tecidos moles. Recomenda-se o uso de um material fino (0,035") para a moldeira, para que o paciente se sinta mais confortável. Além disso, as irregularidades e cavidades podem reduzir a pressão nos dentes e nas gengivas. Evite que o excesso de Colgate Visible White se espalhe pelas gengivas e irregularidades à volta da papila interdentária. Se algum excesso de gel Colgate Visible White atingir as gengivas, pode registar-se irritação nos tecidos.

Para obter os melhores resultados

1. Antes de iniciar este tratamento, ou qualquer outro, de branqueamento dentário, deverá realizar-se um diagnóstico rigoroso. Assegure-se de que os tecidos moles estão saudáveis, de modo a minimizar o trauma dos tecidos. As restaurações não íntegras e / ou áreas cariadas deverão tratar-se antes do início do tratamento branqueador. Os pacientes com a superfície das raízes exposta poderão sofrer de sensibilidade. Se as áreas expostas forem grandes ou se as restaurações não forem as apropriadas, os pacientes poderão vir a ter dores de sensibilidade moderadas a graves, o que se pode evitar, aparando o material do molde ou revestindo temporariamente as áreas sensíveis com um fixador de dentina e uma camada de resina.
2. Proceda à profilaxia de remoção de cálculos e manchas externas. Se o tecido gengival estiver traumatizado, espere uma ou duas semanas antes de iniciar o tratamento branqueador, para reduzir a eventual sensibilidade da gengiva.
3. É recomendável que, antes de iniciar o processo de branqueamento, utilize o seu guia de tonalidades, para ter uma referência que lhe permita monitorizar a evolução do paciente.
4. Verifique se a moldeira se ajusta devidamente e não incomoda. Assegure-se de que a moldeira se encontra afastada da gengiva, a uma distância de 0,2 a 0,3 mm, e ajuste-a, se necessário.
5. Antes do tratamento, os pacientes deverão ser informados da potencial sensibilidade dentária. Se, em qualquer altura, o paciente sentir desconforto nos tecidos moles ou nos dentes, aconselhe o paciente a suspender o tratamento e a combinar uma ida ao seu consultório para os necessários ajustes na moldeira e / ou para tratamento. Um a três dias de pausa no tratamento poderão resolver esta situação.
6. Não compare nem aplique restaurações cimentadas com resina, a não ser duas semanas após o processo de branqueamento, porque é preciso tempo para que a cor estabilize. Esta precaução é necessária antes de colocar restaurações dentárias coloridas definitivas.
7. As moldeiras deverão ser sempre guardadas na caixa fornecida com cada kit de Colgate Visible White, quando não estiverem a ser utilizadas. A moldeira deve ser limpa e lavada, antes e depois de cada tratamento, e reposta na caixa respectiva. Instigue os seus pacientes a escovar os dentes e a usar o fio dentário antes de cada tratamento.
8. Monitorize a evolução do tratamento.

Produção da moldeira de branqueamento

1. Faça uma impressão do arco dentário a branquear em alginato. Encha o molde da impressão em alginato com gesso. Esta operação deverá concluir-se o mais rapidamente possível, após a impressão, para obter a máxima exactidão.
2. Deverá usar uma resina para produzir espaços de cavidades na moldeira. Aplique uma espessura de 0,5 mm de material nas superfícies labiais desejadas. Pare a cerca de 1,5 mm da borda gengival. Não espalhe para as arestas incisivas nem para as superfícies oclusais. Com as cavidades, os pacientes poderão sentir menos desconforto nos dentes quando da pressão da moldeira, devido à redução de pressões ortodónticas.
3. Endureça a resina de acordo com as instruções.
4. Use um formador de vácuo para aquecer o material do molde, até que este diminua 3 a 5 centímetros.
5. Ligue o interruptor em vacuum e deixe que o plástico amolecido se adapte ao molde.
6. Quando a moldeira tiver arrefecido completamente, apare o excesso de material com o auxílio de uma pequena tesoura cirúrgica curva. Apare entre 0,2 e 0,3 mm da borda oclusal à gengival. Recorte à volta da papila interdentária. O recorte e o aparamento da moldeira são muito importantes para minimizar potenciais irritações da gengiva. O ajuste final da moldeira deverá fazer-se na altura do entrega.
7. Verifique no molde que a moldeira se ajusta devidamente.

Processo de branqueamento

Faça ao paciente uma demonstração do processo de branqueamento, utilizando as Instruções do Colgate Visible White para o Paciente, incluídas no kit. Oriente individualmente o paciente conforme achar adequado, atendendo às necessidades e ao bem-estar do paciente. Ensine o paciente a usar as moldeiras 30 minutos duas vezes por dia.

A sensibilidade pode, ocasionalmente, requerer tratamento.

Monitorize a evolução do paciente com intervalos de alguns dias, consoante a severidade da descoloração dentária. Se se deseja apenas uma pequena alteração, avalie a evolução do paciente no espaço de 1 a 3 dias. Como alguns dentes se tornam translúcidos com o branqueamento, observe cuidadosamente os dentes com grandes obturações metálicas, para evitar que se vejam à transparência.

Precauções

1. Leia e aprenda todas as instruções. Use os modelos de moldeiras recomendados e administre o regime de tratamento adequado para proporcionar um óptimo conforto ao paciente.
2. As restaurações deverão ficar isentas de qualquer defeito. A dentina exposta deverá proteger-se, para evitar uma potencial sensibilidade. As áreas podem estar expostas devido a desgaste oclusal, recessão gengival ou abrasão. Se existir um historial de sensibilidade, trate-o com o fixador restaurativo de dentina apropriado ou, provisoriamente, com um selante de dentina.
3. O Colgate Visible White não deverá aplicar-se durante a gravidez ou a amamentação.
4. Se o mal-estar gengival ou dentário persistir (como o resultante de excessiva sensibilidade à temperatura, inflamação das gengivas etc.), aconselhe o paciente a retirar a moldeira, a suspender o tratamento e a contactar o seu consultório para receber mais instruções.
5. Avise os pacientes de que não devem encher demasiado a moldeira com gel branqueador, porque o excesso pode causar sensibilidade ou irritação. Mantenha o controlo do gel Colgate Visible White, entregando apenas o necessário até à consulta de avaliação seguinte (aproximadamente 3 a 5 dias). Monitorize a evolução do branqueamento dentário do paciente, para evitar um branqueamento que exceda o nível desejado ou o grau de translucidez.
6. Guarde à temperatura ambiente. Evite a exposição prolongada a temperaturas superiores a 32° C. Não congele.

Fabricado pela: Colgate Oral Pharmaceuticals Inc.,
a subsidiary of Colgate-Palmolive Company
300 Park Avenue, New York, NY 10022, USA

Para: Colgate-Palmolive Unipessoal, Lda.
Rua Mário Castelhano, 1 - Queluz de Baixo - 2730-120 Barcarena
Tel: 214368300.

Representante Autorizado: Colgate-Palmolive GmbH
Lübecker Strasse 128 - 22087 Hamburg
Fabricado nos USA
B-4041 LIEGE

50693-01

Rev. 1/06

APÊNDICE 10 – DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO I

Nº	Nº RATO	Nº GAIOLA	PESO	CFA	CFP	ESÔFAGO	INTEST. GROSSO	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM	GORDURA PERIRRENAL	BAÇO	GÓNADA	PULMÃO	PRÓSTATA
409	R0	G1	370,4	24	43	C: 9,3 cm	C: 30 cm	P: 1,42	16,1	D: 1,33	1,65	P: 0,74	D: 1,78	D: 1,16	0,44
						L: 3 mm		19x12x8 mm		E: 1,36		43x8x5 mm	E: 1,80	E: 0,63	
410	R1	G1	355,83	23,5	44,2	C: 9,1 cm	C: 33,2 cm	P: 1,12	15,14	D: 1,27	0,65	P: 0,85	D: 1,87	D: 1,18	0,64
						L: 2 mm		19x13x7 mm		E: 1,26		45x9x7 mm	E: 1,87	E: 0,64	
411	R2	G1	370,01	24	44	C: 7,5 cm	C: 26,5 cm	P: 0,89	14,36	D: 1,22	2,3	P: 0,72	D: 1,53	D: 1,08	0,54
						L: 3 mm		17x11x8 mm		E: 1,23		41x7x4 mm	E: 1,56	E: 0,61	
412	R0	G2	376,34	23,5	41,5	C: 9,6 cm	C: 32,5 cm	P: 1	15,75	D: 1,33	2,97	P: 0,65	D: 1,65	D: 1,24	0,35
						L: 3 mm		18x12x8 mm		E: 0,66		41x8x4 mm	E: 1,77	E: 0,66	
413	R1	G2	347,76	23	42,5	C: 8,3 cm	C: 28,5 cm	P: 1	14,51	D: 1,05	1,63	P: 0,72	D: 1,75	D: 1,15	0,53
						L: 3 mm		18x11x8 mm		E: 1,12		43x9x5 mm	E: 1,71	E: 0,60	
414	R0	G3	395,42	24	43	C: 9 cm	C: 28 cm	P: 1,27	15,87	D: 1,19	2,21	P: 0,95	D: 1,87	D: 1,25	0,57
						L: 3 mm		17x12x9 mm		E: 1,18		43x9x4 mm	E: 1,90	E: 0,64	
415	R1	G3	408,26	24	45	C: 7 cm	C: 31,6 cm	P: 1,15	15,33	D: 1,21	3,69	P: 0,84	D: 1,63	D: 1,14	0,52
						L: 2 mm		19x12x6 mm		E: 1,13		39x9x5 mm	E: 1,65	E: 0,57	
416	R0	G4	372,4	23	43,5	C: 7,4 cm	C: 28 cm	P: 1,16	16,93	D: 1,28	1,49	P: 0,77	D: 1,92	D: 1,06	0,46
						L: 2,5 mm		18x12x9 mm		E: 1,35		40x8x4 mm	E: 1,87	E: 0,63	
417	R2	G3	397,88	24	42	C: 6,9 cm	C: 29 cm	P: 1,08	17,83	D: 1,21	4,15	P: 0,73	D: 1,52	D: 1,17	0,6
						L: 2 mm		16x12x7 mm		E: 1,17		37x7x5 mm	E: 1,61	E: 0,61	
418	R1	G4	419,26	24,5	44	C: 8 cm	C: 26 cm	P: 1,25	18,24	D: 1,11	9,87	P: 1,15	D: 1,80	D: 1,37	0,58
						L: 4 mm		19x12x9 mm		E: 1,21		41x9x4,5 mm	E: 1,85	E: 0,61	

APÊNDICE 11 – DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO II

Nº	Nº RATO	Nº GAIOLA	PESO	CFA	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM	GORDURA PERIRRENAL	BAÇO (Peso)	BAÇO (C x A x L)	GÓNADA
332	R0	1	337	24					0,59	3,8x0,5x0,4	
333	R1	1	307	22,5					0,68	3,7x0,3x0,6	
334	R2	1	367	24,5					0,74	3,7x0,3x0,4	
335	R3	1	357,2	24					0,74	3,8x0,9x0,3	
336	R4	1	319,03	23,5							
337	R0	2	337	23,6					0,59	4x0,6x0,5	
338	R1	2	298,88	23,5					0,7	4,5x0,7x0,6	
339	R2	2	273,4	23					0,64	4x0,6x0,4	
340	R3	2	370,6	25					0,88	4,6x0,8x0,5	
341	R4	2	335	23,5					0,56	4,2x0,6x0,4	

APÊNDICE 12 – DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO III

Nº	Nº RATO	Nº GAIOLA	PESO	CFA	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM	GORDURA PERIRRENAL	BAÇO (Peso)	BAÇO (C x A x L)	GÓNADA
342	R0	3	313,6	23	0,85	13,13	D: 1,13 E: 1,06	D: 1,43 E: 1,76	0,67	4x0,5x0,8	D: 1,54 E: 1,56
343	R1	3	324	23,5	1,02	13,08	D: 1,19 E: 1,11	D: 1,76 E: 2,09	0,75	4,5x0,6x0,9	D: 2,19
344	R2	3	336,7	23,5	1,08	15,1	D: 1,29 E: 1,25	D: 1,15 E: 2,15	0,69	4,2x0,5x1	D: 2,55
345	R3	3	352,7	24,3	1,17	19,18	D: 1,37 E: 1,27	D: 1,06 E: 1,42	0,77	4,5x0,4x0,8	D: 3,19 E: 2,50
346	R4	3	335,8	23	1,13	15,12	D: 1,65 E: 1,26	D: 0,89 E: 1,03	1,12	4,5x0,7x1	D: 3,29 E: 3,24
347	R0	4	330,4	23,5	0,98	13,22	D: 1,21 E: 1,13	D: 2,86 E: 2,29	0,76	4x0,4x0,9	D: 2,92 E: 2,65
348	R2	4	330,58	23	0,84	13,25	D: 1,18 E: 0,99	D: 1,37 E: 1,65	0,65	4,2x0,7x0,8	D: não tem E: 1,69
349	R3	4	297,82	21,3	0,94	12,12	D: 1,10 E: 0,99	D: 2,09 E: 1,63	0,76	4,5x0,5x1	D: 3,33 E: 3,15
350	R4	4	318,48	22,3	1,06	15,06	D: 1,29 E: 1,21	D: 0,83 E: 1,13	0,69	4,3x0,6x1	D: 2,82 E: 2,80

APÊNDICE 13 – DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO IV

Nº	Nº RATO	Nº GAIOLA	PESO	CFA	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM	GORDURA PERIRRENAL	BAÇO (Peso)	BAÇO (C x A x L)	GÓNADA
351	R1	6	328,74	24	0,94	12,57	D: 1,28 E: 1,19	D: 3,05 E: 3,19	0,52	3,5x0,7x0,9	D: 3,63 E: 3,67
352	R2	6	289,57	22,1	1,03	11,15	D: 0,90 E: 0,99	D: 1,36 E: 1,71	0,54	3,4x0,6x0,9	D: 2,93 E: 2,83
353	R3	6	318,75	23,6	1	14,33	D: 1,31 E: 1,16	D: 1,64 E: 1,63	0,8	3,7x0,7x0,9	D: 2,14 E: 2,80
354	R4	6	272,4	23	0,87	11,54	D: 0,93 E: 0,97	D: 1,81 E: 2,39	0,45	3,4x0,5x0,6	D: 1,80 E: 1,77
355	R0	8	275,5	23,2	0,83	9,3	D: 1,10 E: 1,15	D: 1,32 E: 1,37	0,58	3,7x0,4x0,9	D: 3,59 E: 3,45
356	R1	8	320,26	23,4	0,9	12,73	D: 1,22 E: 0,99	D: 1,09 E: 1,23	0,75	3,8x0,7x1,2	D: 2,75 E: 2,57
357	R2	8	274,95	21,8	0,88	10,99	D: 0,91 E: 0,86	D: 1,42 E: 1,49	0,47	3,4x0,4x0,9	D: 1,58 E: 1,59
358	R0	7	281,91	21,3	1,15	14,03	D: 1,12 E: 1,12	D: 1,05 E: 1,40	0,74	3,9x0,4x1	D: 2,97 E: 3,02
359	R1	7	321,45	24	1,01	14,11	D: 1,19 E: 1,20	D: 1,78 E: 2,06	0,61	3,5x0,5x0,9	D: 3,39 E: 3,47
360	R2	7	312,68	22	1,07	13,12	D: 1,00 E: 0,99	D: 1,21 E: 1,57	0,59	3,6x0,5x0,8	D: 1,80 E: 1,73

APÊNDICE 14 – DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO V

Nº	Nº RATO	Nº GAIOLA	PESO	CFA	CFP	ESÓFAGO	INTEST. GROSSO	CORAÇÃO	FÍGADO	RIM	GORDURA PERIRRENAL	BAÇO	GÓNADA	PULMÃO	PRÓSTATA
419	R0	G1 (V-I)	336,45	22,2	42	C: 8,2 cm	C: 30 cm	P: 1,13	14,45	D: 1,19	3,06	P: 0,71	D: 1,63	D: 0,65	0,4
						L: 3 mm		18x13x9 mm		E: 1,19		41x8x5 mm	E: 1,50	E: 0,77	
420	R1	G1 (V-I)	324,31	23	41	C: 7,5 cm	C: 23 cm	P: 0,96	14,03	D: 1,27	4,71	P: 0,55	D: 1,57	D: 0,97	0,48
						L: 2 mm		18x11x7 mm		E: 1,17		35x8x5 mm	E: 1,59	E: 0,51	
421	R2	G1 (V-I)	332,67	22,5	42	C: 9,1 cm	C: 27,3 cm	P: 1,28	14,62	D: 1,12	7,14	P: 0,62	D: 1,85	D: 0,81	0,29
						L: 4mm		20x14x10 mm		E: 1,15		37x9x5 mm	E: 1,94	E: 0,51	
422	R0	G2 (V-I)	367,62	24,5	44	C: 6,3 cm	C: 27,3 cm	P: 0,98	16,45	D: 1,35	6,45	P: 0,64	D: 1,80	D: 0,80	0,37
						L: 4 mm		14,3x10,4x8,86 mm		E: 1,32		39,2x8,9x4,85 mm	E: 1,69	E: 0,53	
423	R1	G2 (V-I)	353,2	22,5	43	C: 8,8 cm	C: 35 cm	P: 1	15,14	D: 1,44	3	P: 0,74	D: 1,64	D: 1,23	0,6
						L: 1,9 mm		16x11x8 mm		E: 1,37		42x8x3 mm	E: 1,66	E: 0,60	
424	R1	G3 (V-II)	242,5	23	42	C: 7,2 cm	C: 24,9 cm	P: 0,95	13,1	D: 1,27	7,06	P: 0,78	D: 1,62	D: 1,02	0,42
						L: 5mm		24x12x9mm		E: 1,24		42x9x5mm	E: 1,58	E: 0,50	
425	R0	G3 (V-II)	312,6	22,5	41	C: 8,5 cm	C: 28 cm	P: 1,21	11,64	D: 1,18	1,29	P: 0,61	D: 1,80	D: 1,10	0,38
						L: 1,7 mm		17x10x8 mm		E: 1,12		35x8x3 mm	E: 1,82	E: 0,55	
426	R2	G3 (V-II)	375,12	23,5	43	C: 9,2 cm	C: 32 cm	P: 1,10	16	D: 1,19	2	P: 0,75	D: 1,67	D: 1,24	0,47
						L: 1,8 mm		16x11x8 mm		E: 1,18		39x72x31 mm	E: 1,66	E: 0,63	
427	R1	G4 (V-II)	310	22	41	C: 8,3 cm	C: 20 cm	P: 1,11	14,38	D: 1,10	2,04	P: 0,75	D: 1,43	D: 1,03	0,62
						L: 3 mm		19x11x9 mm		E: 1,12		45x9x5 mm	E: 1,47	E: 0,55	

8 – ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	1
1.1. ALTERAÇÕES CROMÁTICAS DENTÁRIAS	2
1.1.1 - Colorações pré-eruptivas (durante a odontogénese)	3
1.1.2 - Colorações pós-eruptivas (depois da odontogénese)	4
1.2. DIAGNÓSTICO E PLANO DE TRATAMENTO.....	7
1.3. HISTÓRIA	9
1.4. COMPOSIÇÃO DOS MATERIAIS DE BRANQUEAMENTO	11
1.4.1 - Peróxido de carbamida	11
1.4.2 - Peróxido de hidrogénio	12
1.4.3 - Perborato de sódio e outros produtos	12
1.4.4 - Agentes espessantes.....	13
1.4.5 - Ureia	14
1.4.6 - Veículo.....	14
1.4.7 - Surfactante e Pigmentos dispersantes	15
1.4.8 - Conservantes	15
1.4.9 - Aromatizantes.....	15
1.5. MECANISMO DE ACÇÃO	16
1.5.1 - Peróxido de carbamida	17
1.5.2 - Peróxido de hidrogénio	18
1.5.3 - Perborato de Sódio	19
1.6. TERAPÊUTICAS DE BRANQUEAMENTO	19
1.6.1 - Terapêutica de branqueamento em consultório	20
1.6.2 - Terapêutica de branqueamento em ambulatório.....	21
1.7. ALTERAÇÕES NOS TECIDOS DENTÁRIOS E ORAIS	25
1.7.1 - Efeitos sobre o esmalte.....	25
1.7.2 - Efeitos sobre a dentina	27
1.7.3 - Efeitos sobre a polpa	29

1.7.4 - Efeitos sobre o cimento	31
1.7.5 - Efeitos sobre a gengiva e mucosa oral	31
1.8. OUTROS EFEITOS LOCAIS E SISTÉMICOS	34
1.8.1 - Efeitos nos materiais de restauração	34
1.8.2 - Efeitos sobre a mucosa esofágica, gástrica e intestinal	37
1.8.3 - Efeitos carcinogénicos ou citotóxicos	39
1.9. CONSIDERAÇÕES LEGAIS	43
2 - ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL	47
2.1 - OBJECTIVOS DO ESTUDO	47
2.2 - MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.2.1 - Animais e condições de experimentação	49
2.2.2 - Materiais	50
2.2.3 - Protocolo Experimental	52
2.2.3.1 - Indução de Patologia Gástrica não Tumoral	55
2.2.3.2 - Procedimentos Terapêuticos	55
2.2.3.3 - Eutanásia	57
2.2.3.4 - Recolha das amostras	57
2.2.3.5 - Processamento das amostras	64
2.2.3.6 - Método de análise	65
2.2.3.7 - Análise estatística dos dados	66
2.3 - RESULTADOS	67
2.3.1 – Evolução clínica	67
2.3.2 – Observação macroscópica no final do estudo	72
2.3.3 – Observação em Microscopia de Luz	89
3 - DISCUSSÃO	95
4 - CONCLUSÕES	111
5 - RESUMO	112
5 - SUMMARY	114
6 - BIBLIOGRAFIA	116
7 - APÊNDICES	142

APÊNDICE 1-CONSTITUINTES DOS PRODUTOS DE BRANQUEAMENTO DE TERCEIRA GERAÇÃO	142
APÊNDICE 2-EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA PARA TERAPÊUTICA DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO.....	143
APÊNDICE 3-EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES CONTENDO PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO PARA TERAPÊUTICA DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO.....	144
APÊNDICE 4-EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA OU PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO PARA TRATAMENTOS DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO	145
APÊNDICE 5-EXEMPLOS DE MARCAS COMERCIAIS DE DIVERSOS AGENTES NÃO CONTENDO PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO PARA TRATAMENTOS DE BRANQUEAMENTO DENTÁRIO.....	146
APÊNDICE 6-REACÇÕES QUÍMICAS DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO	147
APÊNDICE 7-EQUAÇÕES QUÍMICAS DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DOS DIVERSOS TIPOS DE PRODUTOS DE BRANQUEAMENTO.....	148
APÊNDICE 8-INSTRUÇÕES PARA O DOENTE DO PRODUTO DE BRANQUEAMENTO COLGATE® “VISIBLE WHITE”™(KIT COMERCIAL).....	149
APÊNDICE 9-INSTRUÇÕES PARA O MÉDICO DENTISTA DO PRODUTO DE BRANQUEAMENTO COLGATE® “VISIBLE WHITE”™(KIT COMERCIAL)	150
APÊNDICE 10-DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO I	151
APÊNDICE 11-DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO II	152
APÊNDICE 12-DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO III.....	153
APÊNDICE 13-DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO IV.....	154
APÊNDICE 14-DADOS RECOLHIDOS NA NECRÓPSIA DO GRUPO V	155