

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA E DA EFICÁCIA DO
CLAREAMENTO DENTAL DE CONSULTÓRIO COM PERÓXIDO
DE HIDROGÊNIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES:
ESTUDO CLINICO RANDOMIZADO**

Suellen Nogueira Linares Lima

São Luis

2016

Suellen Nogueira Linares Lima

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA E DA EFICÁCIA DO
CLAREAMENTO DENTAL DE CONSULTÓRIO COM PERÓXIDO
DE HIDROGÊNIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES:
ESTUDO CLINICO RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia da
Universidade CEUMA para obtenção do
título de Mestre em Odontologia

Área de Concentração: Odontologia
Integrada

Orientador: Prof. Dr. Matheus Coelho
Bandéca
Co-Orientador: Prof. Dr. Rudys Rodolfo de
Jesus Tavares

São Luis

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Lima, Suellen Nogueira Linares.

L732a

Avaliação da atividade inflamatória e da eficácia do clareamento dental de consultório com peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações: estudo clínico randomizado. / Suellen Nogueira Linares Lima. – São Luis: UNICEUMA, 2016.

71 p.:il.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Odontologia. Universidade CEUMA, 2016.

1. Citocinas. 2. Clareamento dental. 3. Fluido gengival. I. Bandeca, Matheus Coelho (Orientador). II. Bandeca, Matheus Coelho (Coordenador). III. Título.

CDU: 616.314-008.4

Título: Avaliação da atividade inflamatória e da eficácia do clareamento dental de consultório com peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações: estudo clinico randomizado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade CEUMA para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em : ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Antonio Carlos, minha mãe Neuza e minha irmã Stephanie, pelo amor incondicional e incansáveis esforços para que eu sempre alcance os meus objetivos. Vocês são minha base, exemplo, incentivadores na realização de todos os meus sonhos. Obrigada pelo apoio constante e incentivo nesta e em todas as caminhadas! Não existem palavras para expressar meu amor e admiração por vocês.

Ao meu esposo Darlon pela ajuda, apoio e incentivo durante a realização deste trabalho. Pela compreensão nos momentos que estive ausente ou impaciente. Pelo amor e paciência nas fases difíceis. Pelo companheirismo do dia a dia. Amo você.

À minha filha Isabela, razão da minha vida e dos meus esforços constantes em busca do melhor. Minha pequenininha que mesmo sem entender o motivo da minha impaciência, persistia em estar ao meu lado. Obrigada pelos beijos e abraços sem fim, pelo sorriso lindo que só você tem. Por ter completado a minha vida e fazer dos meus dias os mais felizes. Amo você.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida, por sua proteção diária e por sempre guiar os meus passos. Devo a Ele toda a força e disposição ao longo desta e de todas as caminhadas.

Ao meu amigo e orientador, Prof. Dr. Matheus Coelho Bandeca, muito obrigada por toda dedicação, paciência e seriedade durante todo o nosso estudo. Agradeço imensamente sua disponibilidade e o privilégio de sua amizade. Obrigada pela compreensão, por todos momentos de convivência, todas as oportunidades oferecidas e por ter contribuído muito para a minha formação. Minha eterna gratidão e admiração.

Ao meu co-orientador Prof^o. Dr. Rudys Rodolfo de Jesus Tavarez, pela sua disponibilidade, paciência, amizade e atenção dedicada a este trabalho. Obrigada pelas palavras de incentivo e pelo apoio no decorrer do curso.

Ao Prof^o Dr. Marcos Grissoto, muito obrigada pela paciência em me ajudar, por ter disponibilizado seu laboratório e nele seu tempo tão precioso para colaborar com meu estudo e principalmente pela amizade fortalecida.

À amiga e Prof^a. Dr^a. Luciana Salles Branco de Almeida, por sua disponibilidade em sempre me ajudar, pela pessoa amiga e verdadeira que é, por mesmo distante e atarefada ter de todas as formas buscado me auxiliar. Lu, serei eternamente grata pela sua paciência e feliz pela nossa amizade.

À Prof^a. Dr^a. Viviany Hass, pela atenção, ajuda e horas disponibilizada, pelo exemplo de dedicação e determinação quando a palavra é pesquisa. Mas principalmente pela amizade conquistada e oportunidade de compartilhar seus conhecimentos comigo.

Às amigas que a Pós-Graduação me presenteou: Ana Carolina Diniz e Izabella Ribeiro pela amizade conquistada, seriedade e comprometimento. Obrigada por fazerem do nosso projeto algo conjunto. Com certeza estar ao lado de vocês fez a nossa jornada ser menos cansativa. Vocês foram indispensáveis para concretização deste trabalho.

Aos amigos e professores Eduardo Moffa e Etevaldo Matos pela amizade e disponibilidade durante todo o curso... Muito obrigada!!

À Universidade Ceuma, representada pelo Prof Dr. Valério Monteiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Ceuma, representado pelo Prof. Dr. Matheus Coelho Bandeca.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontológicas: Ceci Carvalho, Célia Pizzan, Elizabeth Fernandes, Fausto Bramante, Júlio Gurgel, Letícia Machado, Marco Aurélio Paschol, Meire Coelho, pelo conhecimento e experiências transmitidas, pelo acolhimento, oportunidades, pelas palavras de incentivo nos momentos de desânimo.

À Erymonica, pelo carinho, amizade e convivência. Obrigada pela paciência, por sempre nos ouvir, aconselhar e encontrar uma solução para tudo... meu muito obrigada!

Aos demais funcionários da seção de pós-graduação. Obrigada pela paciência!

Aos pacientes dessa pesquisa, sem os quais a mesma não seria realizada: obrigada pela paciência e disponibilidade em colaborar!

Aos professores e funcionários da graduação do curso de Odontologia, pela colaboração e paciência enquanto utilizávamos as dependências clínicas para a realização do nosso trabalho.

À professora Dra Andrezza Maciel e a Prof. Tarcia Falcão, pelos momentos de convivência durante o estágio.

Aos meus queridos amigos e companheiros de Pós-Graduação: Adriano, Alberto, Caroline, Eliane, Gabriela, Jackeline, Luanda, Lucyneide, Kleist, Olinto, Patrícia, Perla, Rafael, Rosyane, Sângela, Stephanye muito obrigada pela convivência sempre alegre e agradável, pelo companheirismo, pelos momentos de descontração e pela amizade durante esse tempo. Muito sucesso e realizações a cada um de vocês!!!

À Fundação de Amparo à pesquisa (FAPEMA) pelo auxílio financeiro.

À empresa DMC, pela doação dos géis de clareamento utilizados no estudo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a elaboração e conclusão desse trabalho,

...Meus sinceros agradecimentos

“Um bom professor educa seus alunos para uma profissão, um professor fascinante os educa para a vida”.

Augusto Cury

RESUMO

Lima SNL. Avaliação da atividade inflamatória e da eficácia do clareamento dental de consultório com peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações: estudo clínico randomizado [dissertação]. São Luis. Universidade CEUMA; 2016.

RESUMO

Objetivo: Este estudo comparou a eficácia dos agentes clareadores, o volume de fluido gengival crevicular (FGC) e os níveis de citocinas presentes no FGC, de dois agentes clareadores a base de peróxido de hidrogênio a 15% (PH15) e 35% (PH35). **Materiais e Métodos:** Estudo clínico randomizado, duplo cego, com 22 voluntários, que foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos: PH15 (teste) e PH35 (controle). Os tratamentos foram realizados em 2 sessões clínicas de 3 aplicações de 15 minutos do agente clareador. A eficácia (E) foi determinada pelas escalas de cor Vita Classical, Vita Bleachguide 3D e pela variação de cor (ΔE), registrada pelo espectrofotômetro Easy Shade. Para a análise do volume de FGC e dos níveis de citocinas, foram coletados FGC dos seis dentes anteriores superiores por paciente no tempo baseline (T0), imediatamente após o clareamento (T1), um dia (T2) e 21 dias após os tratamentos (T4), para posterior aferição da quantidade volumétrica e análise dos níveis das citocinas IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ por citometria de fluxo. Os dados da eficácia foram submetidos a análise estatística pelo teste Mann Whitney e pelo teste t de Student, a comparação da percepção visual do paciente pelo teste Qui-quadrado, o volume de FGC pelo teste t de Student e os níveis de citocinas pelo teste de Wilcoxon pareado. Em todos os testes estatísticos, o nível de

significância foi de 5%. Resultados: Houve uma diferença estatística entre os grupos de estudo sob os métodos de avaliação subjetiva e objetiva, sendo o de 35% mais efetivo. Não houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em relação ao volume de FGC. Porém foi possível observar diferença estatisticamente significativa nas análises intragrupos, principalmente após a remoção do produto clareador. Não houve diferenças significativas entre as concentrações de todas as citocinas quando os grupos são comparados em seus diferentes tempos. Conclusão: Uma concentração mais alta de peróxido de hidrogênio foi mais eficaz no clareamento. No entanto, diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio não interferem na quantidade volumétrica de FGC produzido e nos níveis de citocinas inflamatórias.

Descritores: citocinas, clareamento, fluido gengival crevicular.

ABSTRACT

Lima SNL. Evaluation of the inflammatory activity and efficacy of office dental whitening with hydrogen peroxide in different concentrations: s: randomized clinical trial [dissertation]. São Luis. Universidade CEUMA; 2016.

Objective: This study compared the efficacy of bleaching agents, crevicular gingival fluid (FGC) and cytokine levels present in FGC, of two 15% hydrogen peroxide (PH15) and 35% (PH35) bleaching agents. **Materials and Methods:** A randomized, double-blind clinical study with 22 volunteers, which were randomly assigned to 2 groups: PH15 (test) and PH35 (control). The treatments were performed in 2 clinical sessions of 3 applications of 15 minutes of the whitening agent. Efficacy (E) was determined by the Vita Classical, Vita Bleacheadguide 3D color scales and the color variation (ΔE), recorded by the Easy Shade spectrophotometer. For the analysis of FGC volume and cytokine levels, FGC were collected from the six upper anterior teeth per patient at baseline (T0), immediately after bleaching (T1), one day (T2) and 21 days after treatments (T3), for subsequent volumetric titration and analysis of cytokine levels IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF and IFN- γ by flow cytometry. Efficacy data were submitted to statistical analysis using the Mann Whitney test and Student's t-test, comparison of the patient's visual perception with the chi-square test, the Student's t-test FGC volume and the cytokine levels by the test of Wilcoxon paired. In all statistical tests, the level of significance was 5%. **Results:** There was a statistical difference between the study groups under the subjective and objective evaluation methods, being 35% more effective.

There was no statistically significant difference between the two groups in relation to the volume of FGC. However, it was possible to observe a statistically significant difference in the intragroup analyzes, especially after removal of the bleaching product. There were no significant differences between the concentrations of all cytokines when the groups were compared at different times. Conclusion: A higher concentration of hydrogen peroxide was more effective in bleaching. However, different concentrations of hydrogen peroxide do not interfere in the volumetric amount of FGC produced and in the levels of inflammatory cytokines.

Descriptors: cytokines, whitening, crevicular gingival fluid

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - – Unidades de cor da escala Vita Classical -----	29
Figura 2 - – Unidades de cor da escala Vita Bleachedguide 3D----	29
Figura 3 - Fluxograma dos participantes da pesquisa -----	33
Figura 4 - Escala de cor Vita Classical -----	51
Figura 5 - Profilaxia com escova de Robson e pasta profilática -----	52
Figura 6 - Escala de cor Vita Bleachedguide 3D -----	53
Figura 7 – Espectrofotômetro VITA Easyshade Advance 4.0 -----	53
Figura 8 – Barreira de silicone para aferição da cor com Espectrofotômetro Easy Shade -----	54
Figura 9 – Kit do agente clareador Lase Peoxide Lite (DMC equipamentos) -----	55
Figura 10 – Kit do agente clareador Lase Peoxide Sensy (DMC equipamentos) -----	55
Figura 11 – Avaliação cor inicial (A2 ou mais escuro) -----	57
Figura 12 – Tiras de papel standard (Perio-paper) -----	58
Figura 13 – Coleta do FGC no sulco gengival -----	58
Figura 14 – Periotron 8010 (Oraflow Inc, Smith-cidade, NY, EUA) -	59
Figura 15 – Frascos com o gel clareador (A).-----	60
Figura 16 – Frascos com o gel clareador (B).-----	60
Figura 17 - Barreira gengival fotopolimerizável aplicada.-----	61
Figura 18 – Aplicação dos géis clareadores.-----	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistemas clareadores utilizados no estudo -----	48
Tabela 2 – Características iniciais dos participantes do estudo ---	48
Tabela 3 – Média, desvio padrão e valor p de Δ SGU obtidos com a escala Vita Classical, Vita Bleachedguide e Δ E obtido pelo espectrofotômetro -----	48
Tabela 4 – Comparação da percepção visual do paciente quanto ao efeito clareador.-----	49
Tabela 5 – Variação do volume do fluido gengival ul (médias \pm desvios-padrão) nos diferentes tempos de avaliação nos grupos de estudo -----	49
Tabela 6 – Média e desvio padrão dos níveis das citocinas em (ulLog) das IL-1 e IL-2 nos diferentes tempos de estudo -----	49
Tabela 7 – Média e desvio padrão dos níveis das citocinas em (ulLog) das IL-4 e IL-6 nos diferentes tempos de estudo -----	50
Tabela 8 – Média e desvio padrão dos níveis das citocinas em (ulLog) das IL-10, IFN- γ , TNF nos diferentes tempos de estudo ---	50

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO -----	23
2.MATERIAIS E MÉTODOS -----	26
2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO -----	26
2.2 CÁLCULO AMOSTRAL -----	27
2.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS -----	27
2.4 PROCEDIMENTO CLAREADOR -----	28
2.5 AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE -----	29
2.6 COLETA DO FLUIDO GENGIVAL CREVICULAR -----	30
2.7 ENSAIO DAS CITOCINAS -----	30
2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA -----	31
3. RESULTADOS -----	33
4. DISCUSSÃO -----	35
5. CONCLUSÃO -----	41
6. REFERÊNCIAS -----	41
7. METODOLOGIA DETALHADA -----	51
8. APÊNDICE -----	64
9. ANEXOS -----	70

CAPÍTULO 1

Avaliação da atividade inflamatória e da eficácia do clareamento dental de consultório com peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações: estudo clínico randomizado

Lima SNL, Ribeiro IS, Grisotto MAG, Lima DM, Loguercio AD, Hass V, Fernandes ES, Tavarez RRJ, Bandeca MC

RESUMO:

Objetivo: Este estudo comparou a eficácia, o volume de fluido gengival crevicular (FGC) e os níveis de citocinas presentes no FGC, de dois agentes clareadores a base de peróxido de hidrogênio a 15% (PH15) e 35% (PH35). Materiais e Métodos: 22 voluntários participaram do estudo clínico randomizado, duplo cego, que foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos: PH15 (teste) e PH35 (controle). Os tratamentos foram realizados em 2 sessões clínicas de 3 aplicações de 15 minutos do agente clareador. A eficácia (E) foi determinada pelas escalas de cor Vita Classical, Vita Bleacheade 3D e pela variação de cor (ΔE), registrada pelo espectrofotômetro Easy Shade. Para a análise do volume de FGC e dos níveis de citocinas, foram coletados FGC dos seis dentes anteriores superiores por paciente no tempo baseline (T0), imediatamente após o clareamento (T1), um dia (T2) e 21 dias após os tratamentos (T6), para posterior aferição da quantidade volumétrica e análise dos níveis das citocinas IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF e IFN- γ por citometria de fluxo. Os dados de efetividade foram submetidos a análise estatística pelo teste Mann Whitney e pelo teste t de Student, a comparação da percepção visual do paciente pelo teste Qui-quadrado, o volume de FGC pelo teste t de Student e os níveis de citocinas pelo teste de Wilcoxon pareado. Em todos os testes estatísticos, o nível de significância foi de 5%. Resultados:

Houve uma diferença estatística entre os grupos de estudo sob os métodos de avaliação subjetiva e objetiva, sendo o de 35% mais efetivo. Não houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em relação ao volume de FGC. Porém foi possível observar diferença estatisticamente significativa nas análises intragrupos, principalmente após a remoção do produto clareador. Não houve diferenças significativas entre as concentrações de todas as citocinas quando os grupos são comparados em seus diferentes tempos. Conclusão: O peróxido de hidrogênio 35% foi mais eficaz que o de 15%, porém ambos não resultam em diferença na quantidade volumétrica de FGC produzido e nos níveis de citocinas inflamatórias.

Descritores: citocinas, clareamento, fluido gengival crevicular.

INTRODUÇÃO

O clareamento dental tem sido o procedimento estético escolhido como primeira opção na busca por dentes mais claros e sorrisos mais atraentes, visto que é considerada uma abordagem minimamente invasiva em comparação com outros procedimentos estéticos¹. Tradicionalmente, este procedimento consiste em aplicações de peróxido de hidrogênio ou de carbamida, em concentrações que variam de 6% a 38% podendo ser realizada tanto em consultório, como em casa, sob orientação do profissional^{2,3}. Embora o clareamento caseiro seja um tratamento eficaz, ele apresenta desvantagens em relação ao de consultório, como maior tempo de utilização, até atingir os resultados desejados⁴, o risco de eventual ingestão do gel clareador, necessidade do uso de moldeiras e irritação gengival, são problemas comumente relatados pelos pacientes⁵.

Em ambas as técnicas, o clareamento ocorre, em decorrência da instabilidade e do elevado poder de oxidação do peróxido de hidrogênio. Sua reação se dá pela dissociação do produto em água, oxigênio, e algumas espécies de radicais livres, tais como os radicais hidroxila (OH). Estes radicais hidroxila são capazes, através da difusão pelo esmalte e dentina, de degradar as moléculas orgânicas complexas responsáveis pela coloração dos dentes, reduzindo ou eliminando dessa forma os pigmentos que causam o escurecimento^{6,7}. Supostamente, quanto mais moléculas reativas

existirem no produto, maior será a quantidade de radicais livres formados e mais reações oxidativas ocorrerão⁸. Então géis com maior concentração teoricamente produzem mais reações oxidativas.

Embora seja considerada uma técnica simples e segura, a utilização do agente clareador tem requerido atenção especial, visto que outro fator que contribui para sua eficácia é o baixo peso molecular do peróxido de hidrogênio o que pode ocasionar danos à polpa^{9,10,11}; sensibilidade dental^{12,13}; alterações nos tecidos moles^{14,15}, efeito genotóxico em bactérias e cultura celular¹⁶, efeito citotóxico¹⁷ e irritação gengival.^{18,19}

Muitas dessas interações entre o produto e as células do sistema imune são controladas por mediadores químicos denominados citocinas. Essas moléculas influenciam a atividade, a diferenciação, a proliferação e a sobrevivência da célula imunológica, assim como regulam a atividade de outras citocinas, que podem aumentar (pró-inflamatórias) ou atenuar (anti-inflamatórias) a resposta imune²⁰. Essa diferenciação está diretamente relacionada ao microambiente no qual estão localizadas. As interleucinas 1- β , 6,7 e FNT (fator de necrose tumoral) são pró inflamatórias e as interleucinas 4, 10, 13 e a FTC β (fator transformador de crescimento β) classificadas como anti-inflamatórias²¹.

Dentre as interleucinas pro-inflamatórias, a interleucina 1- β é uma citocina multifuncional produzida por macrófagos e está diretamente relacionada na reabsorção óssea e frequentemente

presente no tecidos e fluido gengival crevicular de pacientes com doença periodontal²². Assim como a IL- 6 que é um dos mais precoces e importantes mediadores de indução e controle de síntese e liberação de proteínas de fase aguda, durante estímulos dolorosos, como trauma ou infecção. Elas são detectáveis a partir de 60 minutos, com pico entre 4 e 6 horas, podendo persistir por 10 dias²³. Uma vez que essas citocinas estão presentes no fluido crevicular de pacientes com inflamação dos tecidos gengivais, torna-se fundamental investigar a presença delas após o clareamento dental com peróxido de hidrogênio.

Assim a coleta e análise deste fluido pode fornecer por meio de uma medida não invasiva dados importantes sobre o efeito dos agentes clareadores sobre as condições gengivais, antecipando o risco de adquirir a doença e determinando a sua progressão²⁴. Embora tenha sido demonstrado que o peróxido de hidrogênio pode induzir alterações patológicas nos tecidos moles em modelos animais²⁵ e em estudos de células^{26,27,28}, existem poucas pesquisas^{29,30} que avaliam a atividade inflamatória no fluido crevicular em seres humanos. Dessa forma a avaliação do fluido, seria uma forma objetiva de verificar a resposta do tecido gengival frente a agressão dos agentes clareadores.

Testou-se as seguintes hipóteses nulas: o uso de diferentes concentrações de agentes clareadores de consultório não interfere na efetividade do clareamento dental.

O uso de diferentes concentrações de agentes clareadores de consultório não promove reação inflamatória do tecido gengival.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do clareamento dental de consultório sobre os níveis de citocinas presentes no fluido gengival de pacientes submetidos a diferentes protocolos de clareamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Ceuma (São Luís, Brasil) sob o número de parecer 1.307.220 e registrado no Rebec sob número RBR-4kkcd7. Após aprovação, 22 voluntários, estudantes da universidade, com pelo menos um dente anterior com cor A2 ou mais escuro por comparação com a escala de cor Vita Shade Guide (Vita Lumin, Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Alemanha) foram selecionados para esse estudo clínico randomizado, duplo cego.

Todos os voluntários receberam profilaxia dental uma semana antes, com pasta profilática e escova de Robson e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido.

Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos no estudo participantes entre 18 e 40 anos, com boa saúde geral e bucal, dentes livres de lesão cariosa e de doença periodontal.

Foram excluídos do estudo gestantes e lactantes; pacientes que já realizaram clareamento dental; fumantes e que possuíam restaurações, tratamento endodôntico ou prótese dental nos dentes anteriores. Também foram excluídos pacientes com trincas, retrações gengivais; lesões cervicais não cariosas; ou fraturas; bem como sensibilidade dental espontânea; descoloração interna severa, com hábitos de bruxismo ou que estivessem fazendo uso de medicamentos com efeito analgésicos ou antiinflamatório e com aparelho ortodôntico fixo.

Cálculo Amostral

O desfecho primário do estudo foi a variação de cor. Estudo anterior reportam que o peróxido de hidrogênio a 35% produz um clareamento de aproximadamente 5 ± 2 unidades de cor da escala Vita (UCV)³¹. No intuito de detectar uma diferença de 2 UCV entre as médias dos grupos, o tamanho amostral mínimo calculado foi de 22 pacientes por grupo com um poder de 90% e um alfa de 5%.

Grupos Experimentais

Para a comparação direta das diferentes concentrações do produto, o desenho boca dividida foi selecionado, no qual o mesmo paciente foi randomizado e submetido aos diferentes tratamentos

nos lados direito e esquerdo dos maxilares superior e inferior. O lado foi determinado por meio de sorteio de envelope selado determinado através do website *sealedenvelope.com*. Os pacientes selecionados foram randomizados e o grupo (n=22) dividido em lado experimental – clareamento com Lase Peroxide Lite 15% versus lado controle – clareamento com Lase Peroxide Sensy 35% (Tabela 1). Nem o paciente nem o operador sabiam qual produto estava sendo utilizado.

Procedimento clareador

Um único operador aplicou os géis clareadores na superfície vestibular dos dentes da mesma forma. Os géis foram identificados por rótulos codificados em A e B. Após profilaxia e registro inicial da cor dos seis dentes anteriores superiores o procedimento clareador foi realizado. Utilizou-se a escala de cor Vita Classic e Vita Bleachedguide e o aparelho espectrofotômetro Vita Easyshade Advance 4.0 (Vident, Brea, CA, EUA).

Os géis Lase Peroxide Sensy 35% e Lase Peroxide Lite 15% foram utilizados (duas sessões, com três aplicações em cada sessão, de 15 minutos cada, com intervalo de 7 dias), sem utilização de luz, de acordo com as instruções do fabricante. Antes da aplicação do gel clareador, uma barreira gengival de resina fotopolimerizável (Top Dam, FGM) foi confeccionada dos dentes 15 ao 25 com 2 mm de espessura, aplicada também na linha média,

separando a hemi arcada direita da esquerda. Todos os pacientes foram instruídos a realizar a escovação regular dos dentes, com creme dental sem agente clareador em sua composição.

Avaliação da efetividade

O resultado do clareamento foi avaliado qualitativamente utilizando o método visual com o auxílio de uma escala de cor Vita Clássica (figura 1) e Vita Bleachedguide, convertidas em unidades de cor (figura 2). A avaliação quantitativamente foi feita por meio do aparelho espectrofotômetro Easy Shade, antes do procedimento e 7, 14 e 21 dias após o início do procedimento clareador. Dois examinadores previamente calibrados participaram desta avaliação.

B1	A1	B2	D2	A2	C1	C2	D4	A3	D3	B3	A3,5	B4	C3	A4	C4
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16

Figura 1 – Unidades de cor da escala Vita Classical (Vita Zahnfabrik)

organizadas por valor e com seus correspondentes numéricos

0M1	0,5M1	1M1	1M1,5	1M2	1,5M2	2M2	2,5M2	3M2	3,5M2	4M2	4,5M2	5M2	5M2,5	5M3
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

Figura 2 – Unidades de cor da escala Vita Bleachedguide 3D-MASTER (Vita Zahnfabrik) com seus correspondentes numéricos

Para padronizar a área das aferições, realizou-se a confecção de uma guia com silicone de condensação (Perfil, Coltène Vigodent, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) com uma perfuração no terço médio vestibular dos dentes de canino a canino

superior, de acordo com orientações da American Dental Association, com auxílio de um bisturi circular de 6 mm de diâmetro, Biopsy Punch (Miltex, York, Pensilvânia, EUA), o que corresponde ao diâmetro da ponta ativa do espectrofotômetro.

Coleta do fluido gengival crevicular

Para coleta do fluido gengival, as áreas foram isoladas com roletes de algodão e os dentes foram levemente secos com jatos de ar. Para eliminar a possibilidade de contaminação com a saliva, o fluido foi coletado com uma tira de papel standard (Perio-paper, IDE Interstate, Amityville, NY, EUA) dos seis dentes anteriores superiores. Essa tira foi então inserida no sulco gengival com profundidade de 1-2 mm por 15 segundos, e imediatamente transferidas para um calibrador Periotron 8010 (Oraflow Inc, Hewlett, NY, EUA) para determinar o volume de FGC.

Tiras contaminadas por sangue foram excluídos da coleta. Após a aferição do volume, as tiras foram imediatamente colocadas em tubos Eppendorf estéril e armazenadas em freezer a -80°C para posterior determinação dos níveis das citocinas. Essa coleta foi realizada, antes, imediatamente após, 24 horas após o clareamento, nas duas sessões e 15 dias após a segunda sessão.

Para aumentar a confiabilidade, todas as medições clínicas foram realizadas pelo mesmo examinador.

Ensaio das citocinas

As dosagens das interleucinas IL-1 β IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, FNT, INF- γ , das amostras obtidas da coleta do fluido gengival crevicular, foram analisadas pelo kit CBA (BD Cytometric Bead Array, San Jose, CA, USA), de acordo com o protocolo do fabricante. Para tanto as amostras foram diluídas pelo tampão de lavagem proveniente do kit utilizado, misturadas no vortex por 5 minutos e centrifugadas por 5 minutos em 1500 rpm para remoção do sobrenadante. A quantidade total de citocinas no fluido foi determinada em picogramas (pg) pela fenotipagem por citometria de fluxo.

Análise estatística

A análise foi desenvolvida seguindo o protocolo de intenção de tratar, e envolveu todos os participantes que foram aleatoriamente designados (Figura 1)³²

Em cada tempo avaliado, os dados de mudança de cor pela escala Vita e Bleachedguide (Δ SGU) foi de duas unidades de guias para as diferenças entre os grupos e foram comparados com o teste de Mann Whitney. No caso dos dados de variação pelo espectrofotômetro (Δ E), a cada tempo avaliado, os dados de mudança de cor em Δ E para diferenças entre os grupos foram submetidos ao teste t de Student para variáveis dependentes.

A comparação da percepção visual do paciente em relação ao

efeito de clareamento foi comparado pelo teste Qui-quadrado e teste exato de Fisher.

O volume de fluido gengival crevicular foi submetido a análise estatística pelo teste t- Student para amostras pareadas e os níveis de citocinas (IL- β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ e TNF) foram submetidos a análise estatística das diferenças entre os grupos em cada avaliação de tempo com testes não paramétricos, uma vez que a distribuição de dados foi assimétrica. As diferenças entre os grupos para os critérios avaliados a cada tempo foram avaliadas por meio do teste de Wilcoxon pareado. Para todos os testes, o nível de significância foi de 5%.

RESULTADOS

Características dos participantes incluídos

Um total de 30 participantes foram examinados na cadeira odontológica a fim de checar se estavam de acordo com a critérios de inclusão e exclusão (Figura 3). A cor no tempo *baseline* dos participantes foi semelhante em ambas as unidades de escala de cores, bem como a sua idade média em anos (Tabela 2).

A adesão ao protocolo

A adesão dos pacientes ao protocolo foi de 88% no grupo de 15% e no grupo de 35%. Todos os demais voluntários participaram das visitas de retorno durante o protocolo de clareamento. Três

participantes não compareceram à visita de um dia. Para esses participantes, a última observação foi transportada para fins estatísticos para manter a intenção de tratar³². A Figura 1 mostra o diagrama de fluxo dos participantes nas diferentes fases do desenho do estudo.

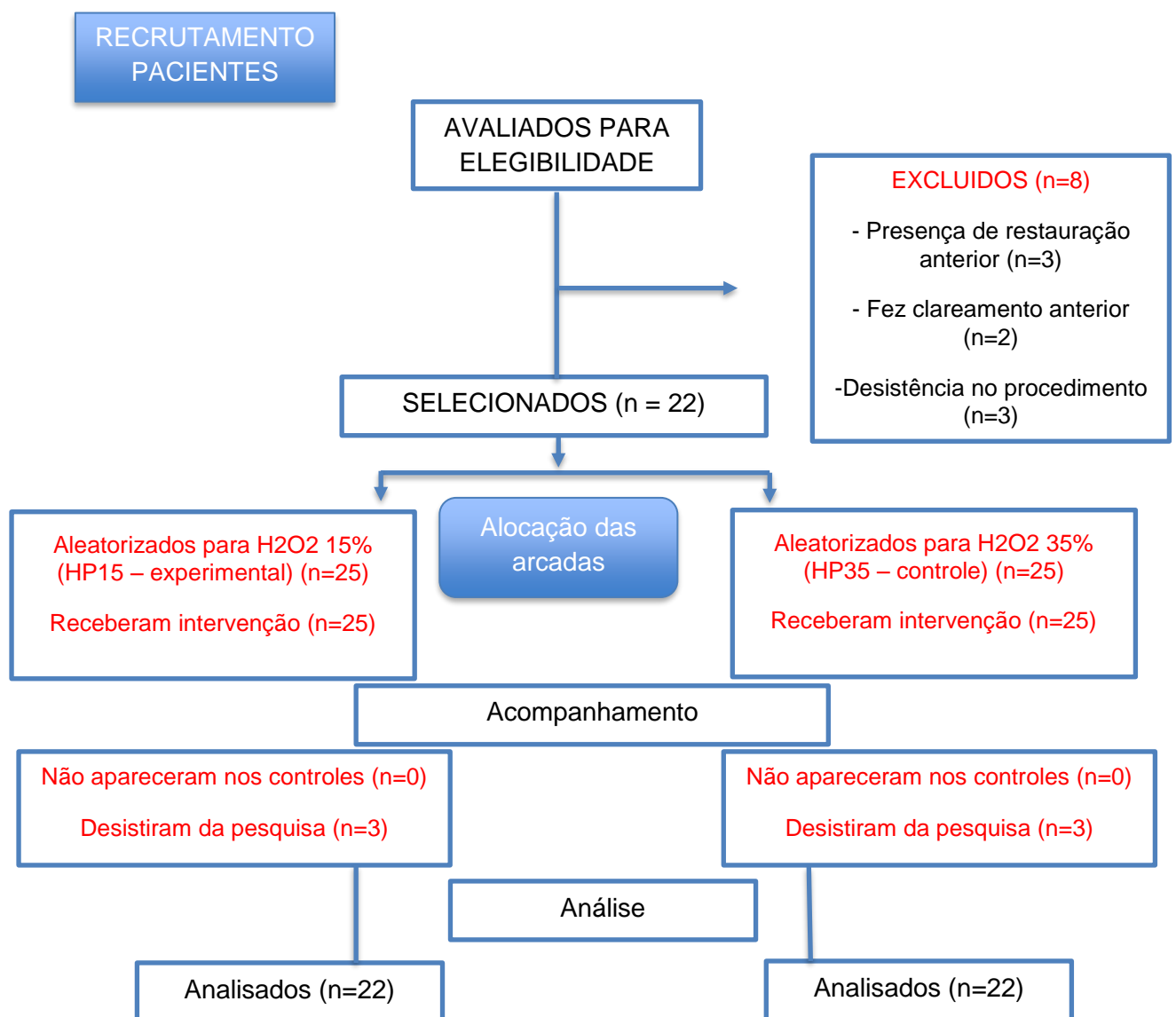


Figura 3: Fluxograma dos participantes da pesquisa

Avaliação da cor

Uma variação de cor foi observada nos grupos de estudo sob os métodos de avaliação subjetiva e objetiva. A maior diferença no clareamento ocorreu dentro da primeira semana de tratamento como pode ser observado pelos três diferentes instrumentos utilizados para a avaliação de mudanças de cor (Tabela 3).

Embora as três ferramentas utilizadas para a avaliação de cor não tenham produzido resultados idênticos, eles tendem a mostrar um grau mais elevado de branqueamento com o peróxido de hidrogênio a 35% na segunda semana de clareamento (Vita Classical, Vita Bleachedguide e espectrofotômetro) e/ou após um mês do clareamento (espectrofotômetro) do que com o de 15%. Isto indica que, 1 mês pós clareamento, foi observada diferença significativa entre ambas as concentrações de pelo menos um dos instrumentos utilizados para a avaliação da cor, o que significa que no final do protocolo de clareamento, o peróxido de hidrogênio a 35% produziu um clareamento maior do que o peróxido de hidrogênio a 15% ($p = 0,02$ para um espectrofotômetro; Tabela 3).

Em relação a resposta observada pelo paciente, uma diferença estatisticamente significativa foi observada apenas para a primeira sessão de clareamento ($p = 0,01$; Tabela 4). Embora não se observou qualquer diferença significativa após a segunda sessão do clareamento ($p = 0,53$; Tabela 4), o número de pacientes mais satisfeitos com o branqueamento dos dentes foi sempre favorável

para o hemi-arco que utilizou o peróxido de hidrogénio a 35% na primeira e na segunda sessão do procedimento (Tabela 4).

Avaliação do volume do fluido gengival crevicular (FGC)

Não houve uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimental e controle em relação ao volume de FGC nos tempos avaliados (Tabela 5). Para as análises intragrupos dos volumes de FGC, uma diferença foi detectada entre os grupos experimental e controle imediatamente após a remoção do produto clareador (Tabela 5). No GE (15%) observou-se na variação T0-T1 que o volume de FGC aumentou de $0,28 \pm 0,18$ ul para $0,47 \pm 0,22$ ul ($p=0,01$) e no GC (35%) de $0,26 \pm 0,15$ ul para $0,46 \pm 0,23$ ul ($p=0,01$); diminuindo gradativamente 24 horas após (T2): GE $0,35 \pm 0,19$ ul e GC $0,32 \pm 0,18$ ul e se manteve baixo em T3.

Avaliação da concentração das citocinas

Não houve diferenças significativas entre as concentrações de todos os níveis das citocinas (IL-1 β , IL-2 (Tabela 6), IL-4, IL-6 (Tabela 7) e IL-10, IFN - γ e TNF (Tabela 8) quando ambos os grupos são comparados imediatamente após o clareamento (T1), um dia depois do clareamento (T2), e um mês após o clareamento (T3).

DISCUSSÃO

Esta metodologia teve como objetivo avaliar os efeitos do peróxido de hidrogênio em suas diferentes concentrações, no

processo inflamatório, por meio da fenotipagem das Interleucinas 1- β , 2, 4, 6, 10, do fator de necrose tumoral e da IFN- γ após o procedimento clareador, bem como avaliar se a diferença na concentração consegue produzir a mesma eficácia de clareamento.

Observou-se que o peróxido de hidrogênio a 35% obteve maior eficácia clareadora através da avaliação objetiva, por meio do espectrofotômetro. Esses resultados são discordantes do estudo de Bortolatto et al,³³ 2014, que observaram resultados inversos aos encontrados neste estudo. Provavelmente a discordância desses achados ocorreu pela diferença entre os protocolos utilizados. No estudo de Bortolatto et al.³³ o protocolo foi realizado em três sessões, e o gel de 15% foi submetido ao processo de catalisação pelo processo de conversão fototérmica com utilização de radiação conjugada LED/laser, que de acordo com os autores, foi determinante para a melhor eficiência desse gel clareador.

Outro fator considerado importante, e que pode influenciar a reação de oxidação dos pigmentos é a concentração do peróxido no produto utilizado^{34,35,36}. Supostamente, quanto mais moléculas reativas existirem no produto, maior será a quantidade de radicais livres formados e mais reações oxidativas ocorrerão³⁷. Alguns estudos^{34,35,36,38,39} realizados demonstraram a correlação entre diferentes concentrações do peróxido e a eficácia do tratamento, ou seja, quanto maior a concentração do peróxido, mais eficaz torna-se o clareamento dental, concordando com os resultados obtidos neste estudo.

A maioria dos métodos para diagnóstico das doenças inflamatórias na Odontologia por meio do FGC tem como objetivo estudar a resposta dos hospedeiros através de métodos imunológicos e/ou biológicos identificando mediadores químicos liberados⁴⁰. O FGC é composto por uma mistura complexa de substâncias derivadas do soro sanguíneo, leucócitos, células estruturais do periodonto e microorganismos bucais, assim ele detém um grande potencial para servir como indicador de doença periodontal e cicatrização pós terapia⁴¹.

Dentre as técnicas existentes, este estudo utilizou tiras de papel, por ser esta uma técnica rápida, de fácil acesso, atraumática e que pode ser utilizada em sítios específicos⁴². Após essa coleta as tiras foram mensuradas por meio do Periotron permitindo a determinação do volume preciso do FGC e possibilitando a investigação laboratorial subsequente da composição química.

Poucos estudos⁴³ avaliam esses efeitos utilizando os mesmos protocolos, portanto, comparações entre diferentes estudos tornam-se limitadas. O protocolo deste estudo é similar ao estudo de Firat et al⁴³ (2011) que comparou a mudança de cor, os parâmetros clínicos periodontais e os níveis de IL-1 beta e IL-10 no FGC dos pacientes tratados com três sistemas de clareamento (Peróxido de carbamida 35%, Peróxido de Hidrogênio 38%; Peróxido de Hidrogênio 35%). Os resultados indicaram que em relação à concentração das citocinas também não houve diferença na quantidade de IL-1 β entre o clareamento com peróxido de carbamida

(caseiro) e o grupo de clareamento com peróxido de hidrogênio (consultório ativado quimicamente) em qualquer intervalo de tempo. Porém foram encontradas diferenças no montante total dos níveis de IL-1 β que aumentou significativamente para o grupo de clareamento com peróxido de hidrogênio (consultório) ativado por luz, depois de 15 dias, segundo os autores pode ser devido ao calor propagado durante a ativação de luz⁴³. Ainda relataram que os resultados não mostraram nenhuma diferença significativa em níveis de IL-10 entre os grupos ou pelo tempo, indicando a ausência de qualquer resposta anti-inflamatória desencadeada pelos diferentes sistemas de clareamento.

Neste estudo foi possível observar que não houve diferença estatisticamente significante na quantidade do FGC em nenhum dos tempos, quando comparou-se as duas concentrações, porém um aumento significativo foi observado nas coletas realizadas no T1 (imediatamente após a remoção dos géis clareadores) sendo esse aumento encontrado nos dois grupos. Isto pode ser explicado como uma inflamação aguda, pois se iniciou rapidamente com uma duração relativamente curta, os níveis retornaram ao normal 24 horas após a aplicação. Observou-se ainda que todos os pacientes iniciaram o tratamento com níveis aceitáveis de fluido gengival assim a resposta inflamatória presente consistiu basicamente de uma reação vascular produzida ou ativada por um estímulo indutor para a produção de fluido²¹.

Os parâmetros clínicos são muito importantes na avaliação da condição dos tecidos periodontais; no entanto, eles não são sensíveis o suficiente para avaliar a alteração inflamatória dos níveis celulares³⁷. Eles se limitam a identificar mudanças qualitativas em tecidos gengivais. Assim o exame do FGC e seus constituintes foi aceito como o melhor, mais atual, e mais sensível método para a avaliação inflamatória gengival³⁸

Neste estudo foram avaliados os níveis das pró-inflamatória IL-1b, IL-2, IL-6, TNF e IFN- γ e das anti-inflamatórias IL-4, IL-10 no FGC. Com base em estudos^{39,29} que relataram o aumento dos níveis de IL-1b no FGC de sítios periodontais doentes em comparação com sítios saudáveis, acreditava-se que o mesmo poderia ocorrer com as demais citocinas. Entretanto, sabe-se que a intensidade e duração da inflamação, gravidade da perda óssea, e a resolução de um estado inflamatório depende da alteração do equilíbrio entre as atividades das citocinas pró e anti-inflamatória durante a inflamação periodontal.³⁹

No presente estudo, algumas citocinas (IL-1 β , IL-6 e TNF) se expressaram em maior concentração imediatamente após a remoção do gel clareador e depois de 30 dias retornaram aos níveis normais, demonstrando assim o nível transitório da inflamação. Esses achados corroboram com estudos de Gurgan et al. (2009)⁴⁴ e Hanning et al. (2007)⁴⁵ que reportaram esses efeitos adversos involuem rapidamente, estando diretamente associado a fatores

como o pH do meio e a concentração do peróxido de hidrogênio, número e a duração das aplicações do produto, dentre outros fatores.^{40,41}

Com base na análise individual da função de cada citocina, é possível observar que suas maiores expressões surgem em processos inflamatórios avançados, como a periodontite, e que após a remissão do estímulo, as citocinas tendem a declinar. Tais fatos se dão provavelmente pela ação osteoclástica e pelo poder de reabsorção óssea de algumas citocinas²¹.

Entretanto é válido lembrar que para combater e/ou equilibrar a resposta pró-inflamatória das IL-1, IL-6 e TNF tem-se outros mediadores como a IL-4, IL-10 e INF- γ que são liberados na medida que o organismo necessita, justificando assim o equilíbrio presente nesse estudo.

Assim do ponto de vista clínico, com os resultados deste estudo foi possível observar que maiores concentrações de peróxido de hidrogênio resultam em maior efetividade clareadora, sem efeito inflamatório. Porém eles devem ser avaliados com cautela visto que outros fatores estão envolvidos no processo de clareamento, portanto mais estudos avaliando a concentração das citocinas correlacionada a outros parâmetros ajudará a elucidar algumas lacunas.

CONCLUSÃO

De acordo com nossos achados, podemos concluir que:

1. Sistemas clareadores à base de peróxido de hidrogênio 35% foi considerado mais efetivo do que o peróxido de hidrogênio 15% de acordo com o protocolo utilizado neste estudo;
2. Os sistemas clareadores provocam aumento na produção do FGC imediatamente após a remoção dos géis;
3. Uma maior concentração dos agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio não acarretam maiores níveis de citocinas inflamatórias quando comparados com menores concentrações.

REFERÊNCIAS

1. Basting RT, Amaral FL, Franca FM, & Florio FM (2012) Clinical comparative study of the effectiveness of and tooth sensitivity to 10% and 20% carbamide peroxide home-use and 35% and 38% hydrogen peroxide in-office bleaching materials containing desensitizing agents Operative Dentistry 37(5) 464-473.
2. Joiner A (2006) The bleaching of teeth: A review of the literature Journal of Dentistry 34(7) 412-419.
3. Joiner A (2004) Tooth colour: A review of the literature Journal of Dentistry 32(Supplement 1) 3-12.

4. Matis BA, Cochran MA, Eckert G (2009) Review of the effectiveness of various tooth whitening systems. Operative Dentistry Mar-Apr 34(2):230-5.
5. da Costa JB, McPharlin R, Hilton T, Ferracane JI, Wang M (2012) Comparison of two at-home whitening products of similar peroxide concentration and different delivery methods Operative Dentistry Jul-Aug 37(4) 333-9.
- 6- Kwon YH, Huo MS, Kim KH, Kim SK, Kim YJ (2002) Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology of bovine enamel J Oral Rehabil 29:473-7.
- 7- Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C (2006) Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues Br Dent J.200:371-6.
8. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching (2004) J Endod 30(1):45-50.
9. Benetti AR, Valera MC, Mancini MN, Miranda CB, Balducci I (2004) In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber Int Endod J.;37(2):120-4.
10. Camargo SE, Valera MC, Camargo CH, Gasparoto Mancini MN, Menezes MM (2007) Penetration of 38% hydrogen peroxide into the pulp chamber in bovine and human teeth submitted to office bleach technique J Endod 33(9):1074-7.
11. Gökay O, Müjdecı A, Algn E (2004) Peroxide penetration into the pulp from whitening strips J Endod 30(12):887-9.

12. Kihn PW, Barnes DM, Romberg E, Peterson K (2000) A clinical evaluation of 10 percent vs. 15 percent carbamide peroxide tooth-whitening agents J Am Dent Assoc 131(10):1478-1484.
13. McGrath C, Wong AH, Lo EC, Cheung CS (2005) The sensitivity and responsiveness of an oral health related quality of life measure to tooth whitening J Dent 33(8):697-702.
14. Kugel G Aboushala A, Zhou X, Gerlach RW (2002) Daily use of whitening strips on tetracycline-stained teeth: Comparative results after 2 months Compend Cont Educ Dent 23(1^a):29-34.
15. Leonard Junior RH, Bentley C, Eagle JC, Garland GE, Knight MC, Phillips C (2001) Nightguard vital bleaching: a long-term study on efficacy, shade retention, side effects, and patients' perceptions J Esthet Restor Dent 13(6):357-369.
16. Ribeiro DA, Marques MEA, Salvador DMF (2006) Study of DNA damage induced by dental bleaching agents in vitro Braz Oral Res 20(1):47-51.
17. Royack GA, Nguyen MP, Tong DC, Poot M, Oda D (2000) Response of human oral epithelial cells to oxidative damage and the effect of vitamin E. Oral Oncol 36(1):37-41.
18. Almas K, Al-Harbi M, Al-Gunaim M (2003) The effect of a 10% carbamide peroxide home bleaching system on the gingival health J Contemp Dent Pract 4(1):32-41.
19. Leonard Junior RH, Garland GE, Eagle JC, Caplan DJ (2002) Safety issues when using a 16% carbamide peroxide whitening solution J Esthet Restor Dent 14(6):358-367.

20. de Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, Gerola IR, Salomão R (2011) Citocinas e Dor. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, São Paulo, v. 61, n. 2, p.255-265, Mar-Abr 2011 ISSN 00347064.
21. Sommer C, White F (2010) Cytokines, Chemokines, and Pain, em: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. – *Pharmacology of Pain*. 1st Ed, Seattle, IASP Press 279-302.
22. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT (2004) Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease *Periodontol*, 35:158-82.
23. Hong JY, Lim KT (2008) Effect of preemptive epidural analgesia on cytokine response and postoperative pain in laparoscopic radical hysterectomy for cervical cancer *Reg Anesth Pain Med* 33:44-51.
24. Castro CE, Koss MA, López ME (2003) Biochemical markers of the periodontal ligament. *Med Oral* 8(5):322-8.
25. Weitzman AS, Weitberg AB, Stossel TP, Schwartz J, Shklar G (1986) Effects of hydrogen peroxide on oral carcinogenesis in hamsters. *J Periodontol* Nov 57(11):685-8.
26. Ribeiro DA, Marques MEA, Salvatori DMF (2005) Assessment of genetic damage induced by dental bleaching agents on mouse lymphoma cells by single cell gel (comet) assay *J Oral Rehabil* Oct 32(10):766-71.
27. Fernández MR, Carvalho RV, Ogliari FA, Beira FA, Etges A, Bueno M (2010) Cytotoxicity and genotoxicity of sodium percarbonate: a comparison with bleaching agents commonly used in discoloured pulpless teeth *Int Endod J* Feb 43(2): 102-8.

28. Lucier RN, Etienne O, Ferreira S, Garlick JÁ, Kugel G, Ehles C (2003) Soft-tissue alterations following exposure to tooth-whitening agents J Periodontol Apr 84(4):513-9.
29. da Costa Filho LC, da Costa CC, Sória ML, Taga R (2002) Effect of home bleaching and smoking on marginal gingival epithelium proliferation: a histologic study in women J Oral Pathol Med Sep 31(8):473-80.
30. Klaric E, Par M, Profeta I, Kopjar N, Rozgaj R, Kasuba V, Zeljezic D, Tarle Z (2013) Genotoxic effect of two bleaching agents on oral mucosa Cancer Genomics Proteomics Sep-Oct 10(5):209-15.
31. Martín J, Vildósola P, Bersezio C, Herrera A, Bortolatto J, Saad JR, Oliveira OB Jr, Fernández E (2015) Effectiveness of 6% hydrogen peroxide concentration for tooth bleaching A double-blind, randomized clinical trial J Dent. 43(8):965-72
32. Schulz KF, Altman DG, Moher D & CONSORT Group (2011) CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials International Journal of Surgery 9(8) 672-677.
33. Bortolatto JF, Pretel H, Floros MC, Luizzi ACC, Dantas ACC, Dantas AAR, Fernandez E, Moncada G, de Oliveira Jr. O.B (2014) Low Concentration H₂O₂/TiO₂ in Office Bleaching a Randomized Clinical Trial Journal of Dental Research 93 (7):66S-71S
34. Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF (1993) Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro J Dent Res 72(5):931-8.

35. Gerlach RW, Sagel PA, Jeffers ME, Zhou X (2002) Effect of peroxide concentration and brushing on whitening clinical response *Compend Contin Educ Dent* 23(1A):16-21 quiz 49.
36. Benetti AR, Valera MC, Mancini MN, Miranda CB, Balducci I (2004) In vitro penetration of bleaching agents into the pulp chamber *Int Endod J* 37(2):120-4.
37. Kawamoto K, Tsujimoto Y (2004) Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching *J Endod* 30(1):45-50.
38. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS (2004) A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine *J Dent* 32(7) 581-90.
39. Browning WD, Swift EJ (2011) Critical appraisal Power bleaching *J Esthet Restor Dent* 23(1):61-7
40. Castro CE, Koss MA, López ME (2003) Biochemical markers of the periodontal ligament *Med Oral* 8(5): 322-8.
41. Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C (2003) Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 31(1):77-104.
42. Goodson JM (2000) Gingival crevice fluid flow *Periodontol* 31(1):43-54.
43. Firat E, Ercan E, Gurgan S, Yalcin Cakir F, Berker E (2011) The Effect of Bleaching Systems on the Gingiva and the Levels of IL-1b and IL-10 in Gingival Crevicular Fluid. *Operative Dentistry* 36-6,572-580.

44. Gurgan S, Cakir FY, & Yazici E (2009) Different light activated in-office bleaching systems: A clinical evaluation *Lasers in Medical Science* 25(6) 817-822.
45. Hannig C, Lindner D, & Attin T (2007) Efficacy and tolerability of two home bleaching systems having different peroxide delivery *Clinical Oral Investigations* 11(4) 321-329.

Tabela 1. Sistemas clareadores utilizados no estudo.

Produto	Fabricante/lote	Composição básica	Modo de Aplicação
Lase Peroxide Sensy	(DMC/31167) São Carlos, SP, Brasil	Peróxido de hidrogênio 35%, espessante, corante, extratos vegetais, amida, agente sequestrante, glicol e água	3 aplicações de x 15 min, totalizando 2 sessões
Lase Peroxide Lite	(DMC/11065) São Carlos, SP, Brasil	Peróxido de hidrogênio 15%, espessante, fotocatalisador nanoparticulado, agente sequestrante, glicol e água	

Tabela 2 – Características iniciais presentes nos participantes do estudo

Características	15%	35%
Idade (media ± SD, anos)	24,09 ± 5,40	
Cor na Baseline (média ± SD, SGU)	7,5 ± 2,57	7,68 ± 2,66

SGU – Valores da escala Vita Classical

Tabela 3 – Média, desvio padrão e valor p de ΔSGU obtidos com a escala Vita Classical, Vita Bleachedguide e ΔE obtido pelo espectrofotômetro

Períodos	ΔSGU (Vita Classical)		valor p(*)	ΔSGU (Vita Bleache)		valor p(*)	ΔE (Vita Easyshade)		valor p(*)
	15%	35%		15%	35%		15%	35%	
Uma semana	5,2±2,3	5,1±2,3	0,35	2,2±1,8	2,4±1,8	0,27	6,7±2,7	7,9±3,3	0,16
Duas semanas	5,3±2,2	5,7±2,3	0,04	3,3±1,8	3,7±1,7	0,002	7,2±2,4	9,4±3,2	0,01
Um mês	5,5±2,5	6,0±2,5	0,48	3,8±1,7	4,3±1,6	0,09	6,9±2,6	8,7±3,0	0,02

(*)Teste Mann Whitney; (**)Teste t-Student para variáveis dependentes

Tabela 4 – Comparação da percepção visual do paciente quanto ao efeito clareador (*)

Sessão	você notou diferença entre		valor p (*)	Qual Hemi arco está mais claro		valor p (*)
	os lados clareados?					
	Sim	Não		15%	35%	
1ª sessão	7	15	0,01	1	6	0,03
2ª sessão	12	10	0,53	3	9	0,04

(*)Teste Qui-quadrado e Teste exato de Fisher

Tabela 5 – Média e desvio padrão (ul) de volume do fluido gengival crevicular nos diferentes tempos*

Tempos avaliados	Grupos		Valor-p(*)
	15%	35%	
Baseline (T0)	0,28±0,18	0,26±0,15	0,52
Imediatamente após o clareamento (T1)	0,47±0,22	0,46±0,23	0,79
24h após o clareamento (T2)	0,31±0,16	0,34±0,17	0,38
1-mês após o clareamento (T3)	0,35±0,19	0,32±0,18	0,40

(*)Teste t-Student amostras pareadas

Tabela 6 – Média e desvio padrão dos níveis das citocinas em (ulLog) das IL-1 e IL-2 nos diferentes tempos de estudo (*)

Tempos	IL-1		valor p(*)	IL-2		valor p(*)
	15%	35%		15%	35%	
Δ (T0-T1)	0,49±0,30	0,08±0,10	0,09	0,78±0,60	0,37±0,30	0,61
Δ (T0-T2)	0,06±0,10	-0,26±0,20	0,81	-0,14±0,10	0,12±0,10	0,77
Δ (T0-T3)	0,64±0,50	-0,09±0,10	0,84	-0,12±0,01	0,79±0,60	0,66

(*)Teste Wilcoxon pareado

Tabela 7 – Média e desvio padrão dos níveis das citocinas em (uLlog) das IL-4 e IL-6 nos diferentes tempos de estudo(*)

Tempos	IL-4		valor p(*)	IL-6		valor p(*)
	15%	35%		15%	35%	
Δ (T0-T1)	0,06±0,04	0,54±0,38	0,11	0,95±0,67	0,54±0,38	0,05
Δ (T0-T2)	-0,38±0,26	3,66±2,58	0,07	0,42±0,29	-0,31±0,21	0,25
Δ (T0-T3)	-0,52±0,36	0,30±0,21	0,28	-0,11±0,07	-0,22±0,15	0,42

(*)Teste Wilcoxon pareado

Tabela 8 – Média e desvio padrão dos níveis das citocinas em (μLlog) das IL-10, IFN-Y e TNF nos diferentes tempos de estudo(*)

Tempos	IL-10		valor p(*)	IFN-Y		valor p(*)	TNF		valor p(*)
	15%	35%		15%	35%		15%	35%	
Δ (T0-T1)	0,79±0,55	0,0±0,0	0,75	0,25±0,17	0,07±0,45	0,86	2,12±1,49	1,36±0,96	0,95
Δ (T0-T2)	0,01±0,00	1,00±0,70	0,75	0,10±0,07	0,24±0,16	0,64	1,71±1,20	-0,27±0,19	0,21
Δ (T0-T3)	0,11±0,07	0,0±0,0	0,79	0,26±0,18	0,10±0,07	0,48	2,02±1,42	1,00±0,70	0,42

(*)Teste Wilcoxon pareado

METODOLOGIA DETALHADA

1.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS PACIENTES PARA O TRATAMENTO CLAREADOR

Este estudo foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Ceuma (São Luís, Brasil) sob o número de parecer 1.307.220 (anexo 1) e registrado na base de dados primária para estudos clínicos ReBEc sob número RBR-4kkcd7 (anexo 2). Após aprovação, foram selecionados 22 voluntários, estudantes da universidade, que correspondiam aos critérios de inclusão do estudo. Todos após preencherem a ficha clínica (apêndice 1), concordaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice 2).

Como critérios de inclusão da pesquisa, os participantes deveriam apresentar a coloração dos incisivos centrais superiores A2 ou mais escuros, por comparação com a escala Vita Classical (Vita Lumin, Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Alemanha) (Figura 4).



Figura 4 - Escala de cor Vita Classical.

Uma semana antes do procedimento clareador foi realizada uma profilaxia com escova de Robson e pasta profilática (Figura 5).

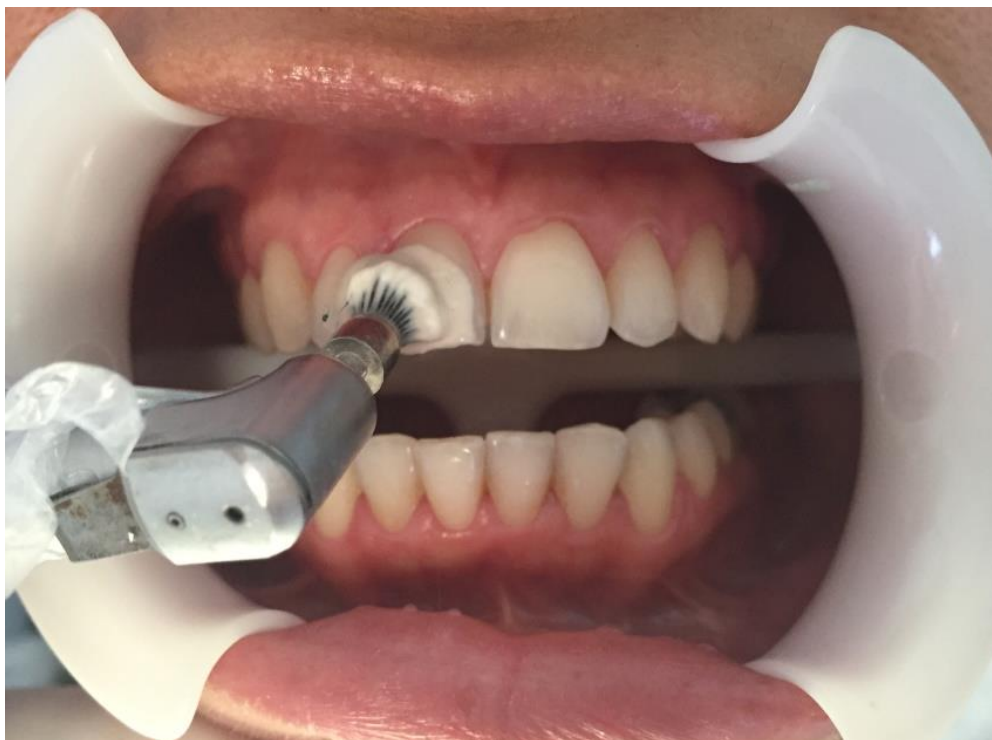


Figura 5 – Profilaxia com escova de Robson e pasta profilática.

A cor inicial dos dentes foi verificada através das escalas Vita Clássical (figura 4) e Vita Bleachedguide 3D (Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Alemanha) (Figura 6) e por um espectrofotômetro digital Vita Easyshade Advance 4.0 (Vident, Brea, CA, USA) (Figura 7).

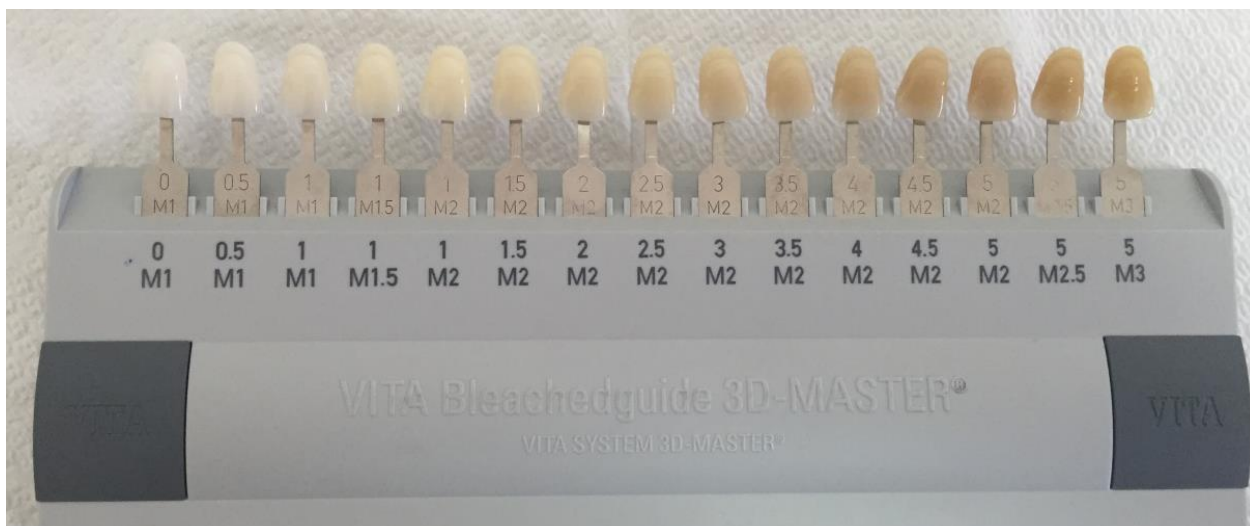


Figura 6 - Escala de cor Vita Bleachedguide 3D.



Figura 7 – Espectrofotômetro VITA Easyshade Advance 4.0.

A avaliação por meio das escalas foi realizada por um avaliador calibrado e a cor foi registrada no *baseline*, antes da segunda sessão, 14 dias e um mês após a primeira sessão.

Para a realização da avaliação da cor pelo espectrofotômetro VITA Easyshade Advance 4.0 (Vident, Brea, CA, EUA) o mesmo foi posicionado na região do terço médio da face vestibular dos dentes de canino a canino, sendo padronizado a área das aferições com uma barreira de silicone de condensação Coltoflax (Vigodent/Coltène, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), com uma perfuração no terço médio vestibular dos dentes de canino a canino superior, de acordo com orientações da American Dental Association, com auxílio de um bisturi circular de 6 mm de diâmetro, Biopsy Punch (Miltex, York, Pensilvânia, EUA), o que corresponde ao diâmetro da ponta ativa do espectofotômetro (Figura 8). Para cada período, a cor foi comparada antes e após o processo de clareamento utilizando a diferença de cor ou ΔE .



Figura 8 – Barreira de silicone para aferição da cor com Espectofotômetro Easy Shade.

1.2 MATERIAIS UTILIZADOS

Para a execução deste estudo foi escolhido um agente clareador a base de peróxido de hidrogênio a 15% Lase Peroxide Lite (DMC equipamentos) (Figura 9) e um a base de peróxido de hidrogênio a 35% Lase Peroxide Sensy (DMC equipamentos) (Figura 10) cujos componentes estão descritos na Tabela 1.



Figura 9 – Kit do agente clareador Lase Peoxide Lite (DMC equipamentos).



Figura 10 – Kit do agente clareador Lase Peroxide Sensy (DMC equipamentos).

1.3 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

Para a direta comparação das diferentes concentrações do produto, o desenho boca dividida foi selecionado, no qual o mesmo paciente foi randomizado e submetido aos diferentes tratamentos nos lados direito e esquerdo dos maxilares superior e inferior. O lado foi determinado por meio de sorteio de envelope selado determinado através do website sealedenvelope.com. Os pacientes selecionados foram randomizados e o grupo (n=22) dividido em lado experimental – clareamento com Lase Peroxide Lite 15% versus lado controle – clareamento com Lase Peroxide Sensy 35%. Nem o paciente nem o operador sabiam qual produto estava sendo utilizado.

A primeira etapa a ser realizada após a profilaxia, foi a avaliação da cor dos dentes (Figura 11), esta avaliação foi realizada na baseline, antes da segunda sessão, 14 e 30 dias após a primeira sessão, utilizando a escala de cor Vita Classic e Vita Bleachedguide e o aparelho espectrofotômetro Vita Easyshade Advance 4.0 (Vident, Brea, CA, USA), com os valores de cor obtidos foi calculado o Δ SGU (valor da cor inicial subtraindo da cor final) e o ΔE .

A cor pelo espectrofotômetro foi determinada através dos parâmetros do aparelho que fornece as coordenadas CIEL*a*b*, onde L* indica luminosidade e o a* e b* o matiz, sendo que o a* representa a cor e saturação no eixo vermelho-verde e o b* delinea a cor e saturação no eixo azul-amarelo. Este sistema foi definido pela Comissão Internacional de Iluminação em 1967. A comparação

da cor antes e após o clareamento foi dada pela diferença de cor ou ΔE , que é representado pela equação:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}.$$



Figura 11 – Avaliação cor inicial (A2 ou mais escuro)

Posteriormente foi realizada a coleta do fluido gengival, com as áreas isoladas com roletes de algodão e os dentes levemente secos com jatos de ar. Para eliminar a possibilidade de contaminação com a saliva, o fluído foi coletado com uma tira de papel standard (Perio-paper, IDE Interstate, Amityville, NY, EUA) (Figura 12) em três sítios dos dentes de canino a canino superior. Essa tira foi então inserida no sulco gengival com profundidade de 1-

2 mm por 15 segundos (Figura 13), e imediatamente transferidas para um calibrador Periotron 8010 (Oraflow Inc, Smith-cidade, NY, EUA) para determinar o volume de FGC (Figura 14).



Figura 12 – Tiras de papel standard (Perio-paper).



Figura 13 – Coleta do FGC no sulco gengival.



Figura 14 – Periotron 8010 (Oraflow Inc, Smith-cidade, NY, EUA)

Tiras contaminadas por sangue foram excluídos da coleta. Após a aferição do volume, as tiras foram imediatamente colocadas em tubos Eppendorf estéril e armazenadas em freezer a -80C para posterior análise.

Essa coleta foi realizada, antes, imediatamente após, 24 horas após o clareamento, nas duas sessões e 30 dias após a segunda sessão.

Para aumentar a confiabilidade, todas as medições clínicas foram realizadas pelo mesmo examinador.

Para o cegamento do operador, os géis foram identificados por rótulos codificados em A e B (Figura 15 e Figura 16) e aplicados por um único operador.



Figura 15 – Frascos com o gel clareador (A).



Figura 16 – Frasco com o gel clareador (B).

Os géis Lase Peroxide Sensy 35% e Lase Peroxide Lite 15% foram utilizados (duas sessões, com três aplicações em cada sessão, de 15 minutos cada, com intervalo de 7 dias), sem utilização de luz, de acordo com as instruções do fabricante (Tabela 1). Antes da aplicação do gel clareador, uma barreira gengival de resina

fotopolimerizável (Top Dam, FGM) foi confeccionada de 2º pré molar a 2º pré molar com 2 mm de espessura, aplicada também na linha média, separando a hemi arcada direita da esquerda (Figura 17). Todos os pacientes foram instruídos a realizar a escovação regular dos dentes, com creme dental sem agente clareador em sua composição.



Figura 17 - Barreira gengival fotopolimerizável aplicada.

Em seguida o géis clareadores foram manipulados, através da mistura do peróxido com o espessante, na proporção de 3 gotas do peróxido para 1 gota do espessante, segundo as recomendações do fabricante para que então fossem aplicados nos seus respectivos lados com auxílio de um microbrush, recobrimo totalmente a superfície vestibular dos dentes a serem clareados, em uma camada de 0,5 mm a 1mm de espessura (Figura 18).



Figura 18 – Aplicação dos géis clareadores.

Os géis permaneceram por 15 minutos sobre as superfícies dentais, e eram agitados para liberar eventuais bolhas de oxigênio e renovar o contato com os dentes. Decorrido este tempo, os produtos foram aspirados com uma cânula de sucção e os dentes e realizada uma nova aplicação dos produtos. Foram realizadas três aplicações de 15 minutos, totalizando em 45 min por sessão, seguindo as recomendações do fabricante.

Após o tempo total do clareamento, o agente clareador foi removido, a barreira retirada, os dentes lavados e devidamente secos com jato de ar para a realização da coleta do FGC. Foram realizadas duas sessões de clareamento com intervalo de 7 (sete) dias entre elas.

Os pacientes foram orientados a retornar com 7 e 21 dias após a segunda sessão, para nova avaliação da cor. Ainda, todos os

pacientes deveriam escovar seus dentes regularmente usando creme dental sem agentes dessensibilizante ou clareador. Também foram orientados a não consumirem alimentos com corantes em excesso, durante o tratamento e a não consumir alimentos ácidos, durante as primeiras 48 horas, para não haver possibilidade de desmineralização, tais alimentos incluem frutas cítricas e refrigerantes.

Avaliação da efetividade

O resultado do clareamento foi avaliado qualitativamente utilizando o método visual com o auxílio de uma escala de cor Vita Clássica e Vita Bleachedguide e quantitativamente por meio do aparelho espectrofotômetro Easy shade, antes, 7, 14 e 30 dias após o início do procedimento clareador. Dois examinadores previamente calibrados participaram desta avaliação.

Ensaio das citocinas

As dosagens das interleucinas IL-1 β IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, FNT, INF- γ , do fluido gengival foram analisadas pelo kit CBA (BD Cytometric Bead Array, San Jose, CA, USA), de acordo com o protocolo do fabricante. Para tanto as amostras foram diluídas, vortexadas e centrifugadas para remoção do sobrenadante. A quantidade total de citocinas no fluido foi determinada em picogramas (pg) pela fenotipagem por citometria de fluxo.

APÊNDICE

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Ceuma

Rua Josué Montello 1, São Luís, MA 65075-120. (98) 3235-0465

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), em uma pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Estudo: AVALIAÇÃO DO FLUIDO GENGIVAL E DA SENSIBILIDADE APÓS CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO

O clareamento dental é atualmente um dos procedimentos estéticos mais requisitados pelos pacientes, visto que, é possível de uma forma pouco invasiva conseguir um sorriso claro e harmônico. Entretanto pesquisas tem sido realizadas no intuito de esclarecer os possíveis danos que o produto utilizado no clareamento pode causar aos tecidos moles. Este estudo é importante porque vai avaliar a

efetividade dos produtos clareadores, bem como a possibilidade de uma inflamação gengival provocada pelos agentes clareadores à base de peróxido de hidrogênio (água oxigenada). Este estudo começará em novembro de 2015 e terminará em janeiro de 2017.

O estudo será feito da seguinte maneira: inicialmente será utilizada uma ficha para coleta de dados, onde serão registradas informações pessoais (nome, idade, sexo, endereço, telefone). Posteriormente será realizado um exame clínico para observar se o paciente se enquadra nos critérios de inclusão/exclusão do trabalho. Trata-se de um estudo clínico, com coleta de dados de pacientes antes, imediatamente após, 24hs após e 15 dias após clareamento dental com gel clareador. O procedimento bem como a coleta serão realizados com o uso de um protocolo e por um único pesquisador.

Os riscos que esta pesquisa apresenta são: durante e após o tratamento poderá haver sensibilidade dentária e/ou pequena irritação gengival transitória no colo dos dentes; o efeito do tratamento não é permanente, podendo haver uma recidiva da coloração do dente com o passar do tempo, dependendo dos hábitos alimentares do paciente, quando poderá haver necessidade de novo tratamento.

Os benefícios que você deverá esperar de sua participação neste estudo, são: ter seus dentes mais claros e harmônicos esteticamente sem custos e que como o protocolo do estudo consta que o clareamento será realizado em duas sessões e que a coloração dos

dentes obtida após o clareamento é variável e não pode ser prevista, pois depende principalmente da causa do escurecimento dos dentes; assim caso seja necessário será realizada uma terceira sessão após o término da pesquisa. Adicionalmente os pacientes serem orientados sobre cuidados básicos de higiene oral e manutenção da saúde bucal.

Sempre que você desejar serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que para isto sofra qualquer penalidade ou prejuízo, ou seja, sem qualquer prejuízo da continuidade do seu acompanhamento odontológico.

Será garantido o sigilo quanto a sua identificação e das informações obtidas pela sua participação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Assinatura Paciente

Pesquisador responsável: Suellen Nogueira Linares Lima

Telefone: (98)996180199

São Luis, ____/____/____

APÊNDICE 2

FICHA CLÍNICA

NOME: _____

COD. IDENT _____

DATA DE INÍCIO: ____/____/____ IDADE:

DATA DE NASC: ____/____/____ SEXO: () F () M

NATURALIDADE: _____ NACIONALIDADE: _____

GRAU ESCOLARIDADE: _____

PROFISSÃO: _____

ENDEREÇO: _____

BAIRRO: _____ CEP: _____

ESTADO CIVIL:

() SOLTEIRO () CASADO () UNIÃO ESTÁVEL ()

DIVORCIADO () VIUVO

EMAIL: _____

TEL:(_____) _____ CEL:(_____) _____

DADOS SAÚDE:

MEDICAMENTO

ANEXOS



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO
MARANHÃO - UNICEUMA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO FLUIDO GENGIVAL APÓS CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO

Pesquisador: Suellen Nogueira Linares Lima

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50080315.5.0000.5084

Instituição Proponente: centro universitario do maranhão-uniceuma

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.307.220



USUÁRIO

SENHA

suellenlinares

ENTRAR

Esqueceu a senha?
Registrar-se

PT | ES | EN

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

Buscar ensaios

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / [ENSAIOS REGISTRADOS](#) /

RBR-4kkcd7

Avaliação do fluido gengival após clareamento com peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações: estudo clínico randomizado

Data de registro: 5 de Nov. de 2015 às 10:28

Last Update: 2 de Junho de 2016 às 15:15

Tipo do estudo:

Intervenções